



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA NATUREZA
DEPARTAMENTO DE SISTEMÁTICA E ECOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS – ZOOLOGIA

NAYLA FÁBIA FERREIRA DO NASCIMENTO

DNA E PALEODISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE *Chiroxiphia pareola* MOSTRAM
DIVERSIFICAÇÃO E CONEXÕES HISTÓRICAS EM FLORESTAS DA AMÉRICA
DO SUL

João Pessoa – PB

2016

NAYLA FÁBIA FERREIRA DO NASCIMENTO

DNA E PALEODISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE *Chiroxiphia pareola* MOSTRAM
DIVERSIFICAÇÃO E CONEXÕES HISTÓRICAS EM FLORESTAS DA AMÉRICA
DO SUL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, área de concentração Zoologia do Departamento de Sistemática e Ecologia da Universidade Federal da Paraíba como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Helder Farias Pereira de Araujo

João Pessoa – PB

2016

NAYLA FÁBIA FERREIRA DO NASCIMENTO

DNA E PALEODISTRIBUIÇÃO POTENCIAL DE *Chiroxiphia pareola* MOSTRAM
DIVERSIFICAÇÃO E CONEXÕES HISTÓRICAS EM FLORESTAS DA AMÉRICA
DO SUL

Prof. Dr. Helder Farias Pereira de Araujo (Orientador)

Departamento de Ciências Biológicas, CCA/UFPB

Marcio Bernardino da Silva

Departamento de Sistemática e Ecologia, CCEN/DSE/UFPB

Luciano Nicolás Naka

Departamento de Zoologia, CCB/UFPE

João Pessoa – PB

2016

N244d Nascimento, Nayla Fábila Ferreira do.
DNA e paleodistribuição de *Chiroxiphia pareola* mostram
diversificação e conexões históricas em florestas da América
do Sul / Nayla Fábila Ferreira do Nascimento.- João Pessoa,
2016.
68f. : il.
Orientador: Helder Farias Pereira de Araujo
Dissertação (Mestrado) - UFPB/CCEN
1. Biogeografia. 2. Filogeografia. 3. Florestas Amazônica e
Atlântica. 4. Pipridae. 5. Refúgios florestais.

UFPB/BC

CDU: 574.9(043)

*Não são as espécies mais fortes que sobrevivem,
nem as mais inteligentes,
e sim as mais suscetíveis a mudanças.”*

Charles Darwin

Dedico as grandes mulheres da minha vida,

Maria das Dores (*in memoriam*), ***Fátima***,

Ely (*in memoriam*) e ***Naysa***.

Tudo só é possível por e com vocês!

Agradecimentos

Agradeço a Helder Araujo, não só por ser meu Orientador, mas amigo e as vezes até pai. Agradeço toda a dedicação, paciência, preocupação, ensinamentos. Obrigada por sempre acreditar na minha capacidade, as vezes até mais do que eu mesma.

Agradeço ao Carlos Eduardo Agne por colaborar de tão boa vontade com o meu projeto desde o princípio, sua disponibilidade foi fundamental para o desenvolvimento do presente trabalho.

Ao Henrique Batalha-Filho, agradeço pela disponibilidade, receptibilidade, enorme paciência e os muitos ensinamentos tanto nos dias que estive em seu laboratório, como a distância depois que retornei.

Ao Programa de Pós de Graduação em Ciências Biológicas(PPGCB), em especial ao secretário Josias por sempre me atender prontamente.

Agradeço ao CAPES pelo apoio financeiro com o consentimento de bolsa.

Agradeço a minha “mainha”, Fátima Lima, o colo para onde sempre posso voltar; o amor que sempre supre tudo; os ensinamentos que podem não ser científicos, mas sempre são os mais sábios. Obrigada por sempre me acalmar, colocar juízo nessa cabeça dura aqui e por sempre me ensinar a ser paciente e não desistir.

A minha irmã Naysa Nascimento, por sempre está ao meu lado em todos os momentos incluindo a parte de bancada, uma das mais difíceis pra mim. Por se esforçar em me ajudar até quando eu queria desistir, você é um exemplo de pessoa e profissional para mim.

Ao meu companheiro Cayo Lima, obrigada por dividir comigo a vida, por me esperar voltar nos longos dias de trabalho, mesmo que essa espera fosse em castelo. Obrigada pelo carinho e apoio, você é uma engrenagem importante nisso tudo pra mim.

As minhas primas/irmãs Andreia Lima, Adriana Lima e Almira Nascimento, por todo o carinho e apoio sempre que precisei. O colo da família sempre é fundamental na caminhada.

Ao meu pai Nilson do Nascimento por sempre ter se esforçado em garantir meus estudos para que eu chegasse até aqui.

As peppas: Samara Medeiros pois, não é fácil me aguentar e ela faz isso desde a sétima série, sempre me ajudou em todas as horas, incluindo as longas noites de estudo, obrigada por tudo amiga; Roberta Rodrigues, agradeço por cada conselho, cada levantada na minha autoestima, cada risada e cada choro, sempre confiou que eu seria capaz de concluir mais essa etapa, obrigada você nem imagina o quanto é importante; Nathalia Canassa, obrigada por mesmo estando longe, no último ano, nunca ter esquecido de mim. Enfim peppas obrigada pelas longas gargalhadas e também por serem o ombro/ouvidos no qual eu sempre posso desabafar.

Agradeço a Célia Machado por toda a ajuda e ensinamento, que ao longo dessa longa e “aperreada” caminhada se tornou uma grande amiga e sempre torcendo e se preocupando para que tudo desse certo.

Agradeço as biologatas: Layla Reis, Aline Paiva, Rachel Alencar, a passarinha Emília Golzio e Bruna Carvalho, me acolheram desde o começo com o maior carinho do mundo. Companheiras no qual dividi as mesmas agonias e também momentos divertidos e maravilhosos. Em especial agradeço a minha gêmea Iamara Policarpo por todas as conversas, por ceder sua casa (juntamente com Bruna) e por dividir comigo até a sua cama, você é especial.

Agradeço as irmãs Ferreira, Mayana e Mayra amigas de sempre, pelo apoio e amizade mesmo estando distantes.

A amiga Cristiane Prates, obrigada por ser companheira nos bons momentos de passarinhada e não só neles.

Agradeço a Erich Mariano por me atender a cada chamado e me “socorrer” nos momentos de apuro no laboratório. Agradeço também por toda a ajuda desde o começo quando eu nada sabia na bancada e por esclarecer até minhas dúvidas mais bestas e me ajudar em tudo que podia.

Agradeço a Laís Angélica pela torcida e preocupação todo o tempo para que tudo desse certo.

Agradeço grandemente ao casal Marcel Lemos e Pollyana Carôzo me acolheram em Salvador e fizeram eu me sentir como se estivesse em minha própria casa. Foram momentos tensos e também felizes, serei sempre grata.

Agradeço grandemente a equipe do Laboratório de Evolução e Biogeografia da UFBA (Silvia Britto, Leandro Argôlo, Lucas Medeiros, Mário Silveira, Camila Trevisan, Lucas Silva e Cécil Fazolato) pela receptividade, carinho, paciência e ensinamentos. Agradeço em especial ao Rilquer Mascarenhas por toda a ajuda e paciência com os procedimentos de bancada bem como durante as análises. Sempre me atendendo mesmo à distância, todo agradecimento é pouco para sua disponibilidade comigo; e a Elaine Cardoso flor obrigada por me socorrer sempre que era preciso enquanto eu estava na UFBA. Foi uma experiência maravilhosa.

Agradeço a equipe do Laboratório de Zoologia dos Vertebrados e Paleontologia do CCA: André Arruda, Lucas Seixas, Arnaldo Vieira, Magna Marinho, Wilmara Lucena, Jayene Brito, Rodrigo Maia, Nayane Sousa, Carlos Rodrigues. Em especial aos amigos e também companheiros de Laboratório Wylde Vieira, Cayo Lima, Samara Medeiros, Nathália Canassa, Dandara Mariz e Bruno Xavier.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribuição geográfica do tangará-falso (*Chiroxiphia pareola*) e suas respectivas subespécies *C. p. pareola*, *C. p. atlantica*, *C. p. napensis* e *C. p. regina* em vermelho, segundo Sick (1997). Os círculos em preto mostram as localidades das amostras de DNA utilizadas na presente pesquisa; os triângulos em azul representam as localidades/registros utilizados nas análises de modelo de distribuição de nicho. Fonte das imagens das espécies *Chiroxiphia pareola*: <http://www.hbw.com> por Jan Wilczur.

Figura 2. Árvore filogenética com inferência Bayesiana com o gene mitocondrial ND2. As cores referem-se aos filogrupos na espécie politípica *Chiroxiphia pareola* representados no mapa da Figura 3.

Figura 3. A) Hipótese filogenética e tempo de divergência entre as linhagens de *Chiroxiphia pareola*, com inferência Bayesiana baseada no gene ND2. As barras em cinza indicam o intervalo do tempo de divergência (taxa do relógio de $2\% \pm 0,01$). B) mapa com as localidades das amostras utilizadas de *Chiroxiphia pareola*, onde cada cor é correspondente a filogenia. As linhas em azul no mapa, indicam a hidrografia. C) redes de haplótipos baseadas em 904 pb de ND2, 618 pb para do COI, 403 pb de G3PDH e 1008 pb do RAG-2. Cada círculo representa um haplótipo e seu tamanho representa sua frequência na rede. As linhas representam as relações entre os haplótipos que diferem em mutações e o tamanho da linha corresponde a distância entre essas populações (steps). As cores representam os filogrupos observados na árvore e as localidades no mapa.

Figura 4. Os gráficos mostram as diferenças par a par entre as sequências e os picos mostram quando muitas sequências apresentam o mesmo número de diferenças, podendo indicar assim uma possível expansão populacional. As linhas tracejadas representam os dados observados, enquanto as linhas sólidas representam os valores esperados. AM - Amazônia; AF - Floresta Atlântica.

Figura 5. Estimativa do *Extended Bayesian Skyline Plot* (EBSP) de demografia histórica da população de *Chiroxiphia pareola* com distribuição na Floresta Atlântica. A linha do meio representa a média da estimativa; e as linhas superior e inferior os limites superior e inferior de 95% de HPD (Highest Posterior Density), respectivamente; o eixo Y está em escala logarítmica.

Figura 6. Modelos de distribuição de nicho ecológico de *Chiroxiphia pareola* no presente (Current), Holoceno (Holocene) (6Kyr), LGM (21Kyr) e LIG (130kyr). A cor azul indica baixa adequação, enquanto a cor vermelha indica maior probabilidade de ocorrência da espécie. Os pontos pretos dispostos no modelo do presente indicam a ocorrência atual de *Chiroxiphia pareola*. AUC indica o valor de performance do modelo.

Figura 7. Detalhe de threshlods da paleodistribuição potencial de *Chiroxiphia pareola* durante o Último Interglacial Máximo (LIG). A) Minimum training presence logistic threshold (LIG); B) Balance training omission, predicted area and threshold value logistic threshold (LIG); C) 10 percentile training presence logistic threshold (LIG); D) Equal training sensitivity and specificity logistic threshold (LIG); E) Probabilidade de ocorrência atual (eixo y) em relação a altitude (eixo x em m); F) Hipóteses de rotas de conexão AM X AF: setas e X vermelho: rotas propostas e descartadas em nossa avaliação; setas verdes: rotas inferidas em nossa avaliação.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Especificações das amostras utilizadas no estudo, incluindo sequências do GenBank que foram utilizadas como outgrup. Coleções: TCAHZ (Coleção de Aves Heretiano Zenaide), DAMZFS (Coleção da Universidade Estadual de Feira de Santana), MPEG (Museu Paraense Emílio Goeldi), INPA (Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas), FMNH (Field Museum Natural History), MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo) e MNT (Museu Nacional do Rio de Janeiro). * Indica a amostra utilizada em determinado gene.

Tabela 2. Porcentagem de divergência de nucleotídica (ND2) entre linhagens de *Chiroxiphia pareola* (ver Fig. 3). Dxy = número médio de substituição de nucleotídeos por local entre as populações; Da = número de substituição de nucleotídeos líquido por local entre as populações.

Tabela 3. Índices de diversidade nucleotídica dos genes ND2, COI, G3PDH e RAG-2 de *Chiroxiphia pareola*, diversidade de nucleotídeo por sítio (π e desvio padrão), Tajima'D, Fu's Fs e as estatísticas Ramos-Onsins e Rozas (R2).

Tabela 4. Percentual de contribuições das variáveis climáticas, nos modelos de distribuição de *Chiroxiphia pareola* durante quatro períodos estudados (presente, Holoceno, LGM e LIG).

Tabela 5. Informações dos espécimes da série tipo da nova espécie, holótipo e parátipos depositados na Coleção de Aves Heretiano Zenaide da Universidade Federal da Paraíba.

Sumário

RESUMO	xi
ABSTRACT	xii
INTRODUÇÃO	1
METODOLOGIA	5
<i>Análises filogenéticas e datação</i>	<i>9</i>
<i>Análises genéticas de populações</i>	<i>10</i>
<i>Modelagens de distribuição</i>	<i>11</i>
RESULTADOS	13
<i>Estrutura genética</i>	<i>13</i>
<i>Estimativa de tempo de divergência.....</i>	<i>16</i>
<i>Diversidade, padrões genéticos e demografia populacional</i>	<i>17</i>
<i>Modelagens climáticas do quaternário e distribuição ancestral potencial de Chiroxiphia pareola</i>	<i>21</i>
<i>Interpretando dados genéticos, ecológicos e de modelagens de distribuição para propor rotas de conexão entre as populações da Amazônia e Mata Atlântica.</i>	<i>23</i>
DISCUSSÃO.....	26
<i>Diversificação espacial e relações filogenéticas em Chiroxiphia pareola</i>	<i>26</i>
<i>Implicações taxonômicas</i>	<i>30</i>
CONCLUSÕES.....	33
REFERÊNCIAS	34

RESUMO

Hipóteses de rios como barreiras biogeográficas e refúgios florestais pleistocênicos são apontadas como mecanismos para explicar a rica diversidade em florestas no Neotrópico. Espécies disjuntas entre as florestas Amazônica e Atlântica são bons modelos para testar tais hipóteses, pois são evidências de possibilidade de conexões entre essas florestas na América do Sul. Desse modo, usamos análises moleculares e de paelodistribuição potencial da espécie de ave que possui distribuição disjunta, *Chiroxiphia pareola*, para testar as hipóteses citadas acima, com o objetivo de verificar possíveis processos de diversificação e/ou expansão de suas populações. Seis genes foram analisados, sendo dois mitocondriais e quatro nucleares. As amostras corresponderam a localidades ao longo da distribuição da espécie. Foram utilizados 179 pontos de ocorrência e 19 variáveis climáticas para modelar sua distribuição no Presente, Holoceno, Último Máximo Glacial (LGM, 21 kya) e o último Interglacial (LIG, 120 kya). Nossos resultados suportaram o reconhecimento de quatro linhagens evolutivamente independentes da espécie politípica *Chiroxiphia pareola*, as quais sugerimos que sejam espécies plenas: *C. regina*, *C. napensis*, *C. pareola* e *nova espécie*, esse último nome recomendado no presente estudo. Suportamos a proposta da dinâmica dos rios como mecanismos eficazes de diversificação na Amazônia, durante o Plio-Pleistoceno, e não corroboramos efeitos das últimas máximas flutuações climáticas do Quaternário. Embora nossos resultados suportem a estabilidade de refúgios florestais pleistocênicos na Floresta Atlântica nordestina, não suportamos o papel de rios como mecanismo de diversificação nessa região, durante o Pleistoceno Superior. Sugerimos ainda uma rota de conexão entre as florestas Amazônica e Atlântica por volta do Pleistoceno Médio na região entre o rio São Francisco e a Chapada Diamantina, no nordeste brasileiro.

Palavras chave: Amazonia, filogeografia, Floresta Atlântica, Pipridae, refúgios florestais.

ABSTRACT

DNA and potencial paleodistribution of *Chiroxiphia pareola* shows diversification and historical connections in South America rainforests. Rivers and Pleistocene forest refuges hypotheses have been proposed as mechanisms to explain high diversity in Neotropical rainforests. Amazon and Atlantic forest disjunct species are good models to test these hypotheses, because are evidence of possible connections between these forests in South America. Therefore, we use molecular analyse and potential paelodistribution of a bird species with disjunct distribution, *Chiroxiphia pareola*, to test hypothese mentioned above. We aim to find evidences of possible diversification processes and/or bird populations expansion. We analyzed two mitochondrial and four nuclear genes of samples from sites along the species distribution. 179 location points and 19 climate variables were used to model distribution during the Current, Holocene, Last Glacial Maximum (LGM, 21 kya) and the Last Interglacial (LIG, 120 kya). Our results supported four evolutionary independent lineages in species polytypic *C. pareola*, which we recommend should be full species: *C. regina*, *C. napensis*, *C. pareola* and *New taxon*, the latter name recommended in this study. We support the proposal of rivers dynamics as effective diversification mechanisms in Amazon during Plio-Pleistocene. However, we do not corroborate effects of last maximum climatic fluctuations of the Quaternary. Although our results support forest refuges stability during Late Pleistocene in northeastern Atlantic forest, we do not support role of rivers as diversification mechanism in this region. We also suggest a connection route between the Amazon and Atlantic forests during Middle Pleistocene in region between São Francisco river and Chapada Diamantina, in northeastern Brazil.

Keywords: Amazon, Atlantic forest, forest refuges, phylogeography, Pipridae.

Dna e paleodistribuição potencial de *Chiroxiphia pareola* mostram diversificação e conexões históricas em florestas da América do sul

INTRODUÇÃO

Durante várias décadas, pesquisadores têm procurado por explicações e modelos de diversificação para explicar a rica biodiversidade Neotropical (Haffer, 1997). Mais recentemente, discussões mais intensas estão sendo formuladas sobre várias hipóteses que explicam os padrões da diversidade Neotropical, com a utilização de dados paleontológicos, geológicos e filogenéticos (ver Pennington *et al.*, 2006; Hoorn *et al.*, 2010; Ribas *et al.*, 2012b; Hughes *et al.*, 2013; Batalha-Filho *et al.*, 2014). Por exemplo, na Amazônia, padrões de diversificação de táxons entre interflúvios são bem documentados por Aleixo & Rossetti (2007) e por Ribas *et al.* (2012b) estudando o gênero *Psophia*. No entanto, ainda são poucos os estudos realizados no nordeste brasileiro, região que abriga uma diversidade de ambientes que foram utilizados para propor hipóteses e modelos de diversificação nas décadas de 1970 e 1980, mas que não tiveram um aporte de investigação para avançar nessas discussões, principalmente com a contribuição da biologia molecular.

Dois exemplos clássicos e mais discutidos sobre os mecanismos de especiação em floresta úmida na América do Sul correspondem a 1) hipótese dos rios como limites de distribuição e barreiras biogeográficas (Wallace, 1852; Ayres & Clutton-Brock, 1992), e 2) hipótese dos refúgios florestais pleistocênicos, que foi citada inicialmente para explicar especiação de aves na Amazônia (Haffer, 1969), mas que originou posteriormente discussões para exemplificar diversificação na América Tropical (ver Whitmore & Prance 1987). Como consequência, no nordeste brasileiro, refúgios florestais oriundos de processos de expansão e retração de florestas durante flutuações climáticas do Pleistoceno também foram citados como hipóteses para explicar a ocorrência de Floresta Atlântica disjunta da Amazônia nessa região (ver Vanzolini & Willians, 1970; Ab'Saber, 1977; Brown & Ab'Saber, 1979; Andrade-Lima, 1982). Ainda, a hipótese dos rios como barreira biogeográfica entre a biota florestal de margens opostas de rios na Floresta Atlântica também foi proposta (Silva *et al.* 2004, Santos *et al.* 2007; Carnaval & Moritz, 2008; Carnaval *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2012).

A ocorrência atual de táxons com distribuição disjunta entre a Amazônia e a Floresta Atlântica corresponde a uma das principais evidências de possibilidade de

conexões pretéritas, devido a eventos de expansão florestal na América do Sul (Whitmore & Prance, 1987; Oliveira *et al.*, 1999; Batalha-Filho *et al.*, 2013; Carvalho 2013). Batalha-Filho *et al.* (2013) evidenciam a possibilidade de dois principais períodos de conexão florestal entre a Amazônia e a Floresta Atlântica: 1) um mais antigo, datado do Mioceno Superior, que pode ter existido ao longo da margem sul do Cerrado atual conectando o oeste amazônico com a porção da Floresta Atlântica localizada mais ao sul; (2) e uma conexão mais recente (Plioceno-Pleistoceno) que possivelmente ocorreu sobre os domínios atuais do Cerrado e Caatinga, conectando as florestas no nordeste do Brasil com a Amazônia. São propostas duas rotas durante essa conexão mais recente, uma rota (A) adjacente ao litoral norte da região nordeste e outra (B) pelo interior, na região do médio rio São Francisco e Chapada Diamantina (Oliveira *et al.*, 1999).

Ainda, estudos com paleodistribuição potencial na Floresta Atlântica sugerem que o efeito das variações climáticas do Pleistoceno Superior não foi similar em toda sua extensão territorial. Na região sul e sudeste, por exemplo, a instabilidade derivada das flutuações climáticas foi muito mais intensa que na região nordeste. Portanto, o habitat disponível para os táxons que ocorrem na região nordeste teria sido mais estável climaticamente e, conseqüentemente, teve menos alteração territorial que os habitats localizados nas regiões sul e sudeste (Carnaval & Moritz, 2008, Carnaval *et al.*, 2009). Esses autores sugerem que essa área mais estável correspondeu a refúgios pleistocênicos na Floresta Atlântica nordestina, denominados de Refúgio Bahia e Refúgio Pernambuco, limitados entre si pela barreira biogeográfica do rio São Francisco.

Dentre os grupos taxonômicos estratégicos para ampliar estudos sobre todas essas hipóteses citadas, as aves da família Pipridae correspondem um componente chave, pois representam alguns dos vertebrados mais abundantes no sub-bosque das florestas tropicais na América do Sul, bem como, são os únicos suboscines frugívoros que utilizam os estratos inferiores com maior riqueza de espécies (Traylor & Fitzpatrick, 1982).

Uma dessas espécies, *Chiroxiphia pareola* distribui-se de forma disjunta nas florestas Atlântica e Amazônica, habita a mata de terra-firme e mata ribeirinha (Ridgely & Tudor, 1994) e, portanto, é um táxon interessante para testar as hipóteses de rios, refúgios e conexões entre essas florestas como mecanismos de diversificação. *Chiroxiphia pareola* é uma espécie politípica com quatro subespécies atualmente reconhecidas (Miller, 1908; Ridgely & Tudor, 1994; Snow, 2004; Kirwan & Green, 2011). Sua distribuição estende-se das Guianas e Venezuela à Bolívia, norte de Mato

Grosso e Ceará, bem como é facilmente encontrada entre o Rio Grande do Norte e Rio de Janeiro, na Floresta Atlântica (Fig. 1) (Ridgely & Tudor, 1994). Ocorre principalmente em planícies com aproximadamente 500 m, mas em algumas regiões como no Equador e Peru, atinge locais com 750 m acima do nível do mar (Snow, 2004).

Para auxiliar a reconstrução de histórias evolutivas de biotas, a biogeografia histórica vem recebendo colaborações de estudos baseados em análises moleculares e paleomodelagens de distribuição (ver Carnaval *et al.*, 2009; Ribas *et al.*, 2012b; Werneck *et al.*, 2012). Essa recente expansão de trabalhos filogeográficos com vários grupos biológicos vem trazendo à tona evidências de estruturação populacional e tempo de divergência entre populações e esses dados tem proporcionado o surgimento de novas propostas para entender a origem e diversificação na América do Sul (Cadena *et al.* 2007).

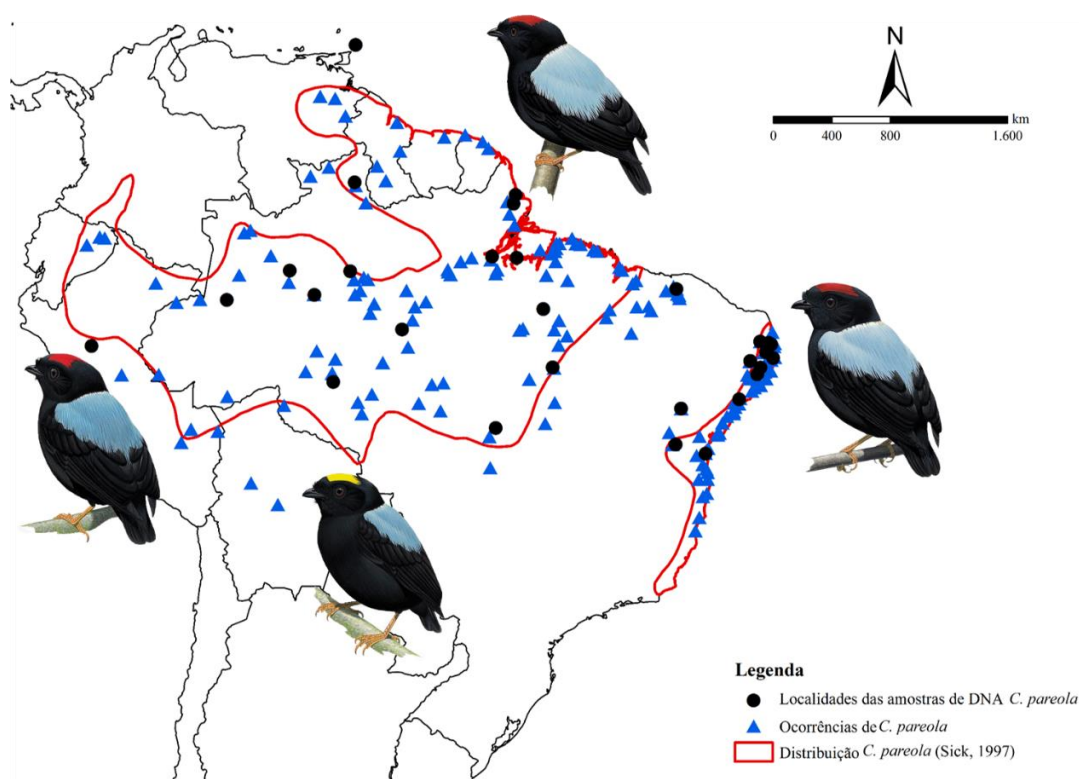


Figura 1. Distribuição geográfica do tangará-falso (*Chiroxiphia pareola*) e suas respectivas subespécies *C. p. pareola*, *C. p. atlantica*, *C. p. napensis* e *C. p. regina* em vermelho, segundo Sick (1997). Os círculos em preto mostram as localidades das amostras de DNA utilizadas na presente pesquisa; os triângulos em azul representam as localidades/registros utilizados nas análises de modelo de distribuição de nicho. Fonte das imagens das espécies *Chiroxiphia pareola*: <http://www.hbw.com> por Jan Wilczur.

Desta forma, nós utilizamos ferramentas moleculares e de modelagem de distribuição de nicho para verificar se as populações *C. pareola* deixaram registros de processos de diversificação e/ou expansão relacionados às hipóteses citadas

anteriormente. Para isso, pretendemos responder as seguintes questões: 1) Padrões de diversificação entre interflúvios amazônicos podem ser observados na espécie politípica *C. pareola*? 2) Devido a sua distribuição atual na Floresta Atlântica, as suas populações amazônicas e atlânticas compartilham evidências genéticas que suportem a hipótese da conexão Plio-Pleistocênica dessas florestas? 3) Paledistribuições potenciais de *C. pareola* podem captar informações e corroborar rotas de conexão propostas entre as atuais florestas amazônica e atlântica?

METODOLOGIA

Amostragem de DNA e métodos laboratoriais

Genes mitocondriais foram obtidos de 44 amostras de tecido muscular de *C. pareola* com NADH-desidrogenase subunidade 2 (ND2) abrangendo localidades da Amazônia (AM) e Floresta Atlântica (AF), ao longo de toda sua distribuição, oito amostras com DNAm citocromo oxidase I (COI). Foram analisados também os seguintes intróns nucleares gliceroldeído-3-fosfato desidrogenase (G3PDH), em 21 amostras, e *Transforming growth factor beta* (TGFB2) em 15 amostras, bem como duas proteínas nucleares RAG-1 e RAG-2 (Recombination of Activating Gene) em oito e sete amostras, respectivamente (Fig.1, Tab. 1).

As amostras foram provenientes das seguintes coleções: Heretiano Zenaide da Universidade Federal da Paraíba, Divisão de Aves da Universidade Estadual de Feira de Santana, Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo; Museu Paraense Emílio Goeldi, Museu Nacional do Rio de Janeiro e Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia e Field Museum of Natural History de Chicago. Foram utilizadas sequências provenientes do GenBank de *Chiroxiphia caudata* e *Chiroxiphia linearis*, como grupo externo nas reconstruções filogenéticas (Tab. 1).

O DNA foi extraído através de amostra de tecidos muscular a partir do Kit DNeasy Blood & Tissue seguindo o protocolo padrão do fabricante (Qiagen, Valência, CA). As amplificações foram realizadas com o Kit de amplificação Max Taq DNA Polimerase (Vivantis). Os primers utilizados para o mtDNA ND2 foram o L5216 (GGCCCATACCCCGRAAATG) e H6313 (ACTCTTRTTTAAGGCTTTGAAGGC) (Sorenson *et al.*, 1999 e 2003); para o COI citocromo oxidase I (COI) usamos o coquetel de primers adaptado de Ivanova *et al.* (2007), anexado com M13 para auxiliar no sequenciamento (Messing 1983). Para amplificação dos intróns nucleares, os primers utilizados foram o G3PL890 (ACCTTTAATGCGGGTGCTGGCATTGC) e G3PG950 (CATCAAGTCCACAACACGGTTGCTGTA) para o G3PDH (Friesen *et al.*, 1997) e TGFB2-5F (GAAGCGTGCTCTAGATGCTG) e o TGFB2-6R (AGGCAGCAATTATCCTGCAC) para o intrón TGFB2 (Primmer *et al.*, 2002). Para amplificação de RAG-1 e RAG-2 foram usados os seguintes primers, RAG-1: 17-20, 19-22, 21-24, 23-2b; RAG-2: 1-16 (Groth & Barrowclough, 1999; Barker *et al.*, 2004; Tello *et al.*, 2009).

As amplificações de PCR foram realizadas em termociclador com 25µl de reação, usando 12,5µl de Master Mix, 10µl de água ultra purificada, 0,5µl de cloreto de magnésio, 0,5µl de cada um dos primers (Ford e Reverse) e 1µl do DNA extraído.

As condições das amplificações de cada loco foram: 1) ND2 – um passo inicial de desnaturação a 94°C por 2 min.; seguido de 35 ciclos a 94°C por 30 seg., 52°C por 40 seg. e 72°C por 2 min.; e um passo final de extensão a 72°C por 10 min.; 2) G3PDH – um passo inicial de desnaturação a 94°C por 3min. 30 seg.; seguido de 35 ciclos a 94°C por 35 seg., 56°C por 40seg., 72°C por 1min.; e um passo final de extensão a 72°C por 9min.; 3) TGFB2 - um passo inicial de desnaturação a 94°C por 3min. 30 seg.; seguido de 35 ciclos a 94°C por 35 seg., 64°C por 40seg., 72°C por 1min.; e um passo final de extensão a 72°C por 9min; 4) COI como em Ivanova *et al.* (2007) e para os genes nucleares RAG-1 e RAG-2 como em Tello *et al.* (2009).

Os produtos da PCR passaram por um processo de purificação, em seguida foram encaminhadas para sequenciamento utilizando os mesmos primers da amplificação das amostras frescas. O sequenciamento foi realizado pela Plataforma de Sequenciamento de DNA do Centro de Pesquisas Gonçalo Moniz – Fiocruz em Salvador - BA.

Tabela 1. Especificações das amostras utilizadas no estudo, incluindo sequências do GenBank que foram utilizadas como outgrup. Coleções: TCAHZ (Coleção de Aves Heretiano Zenaide), DAMZFS (Coleção da Universidade Estadual de Feira de Santana), MPEG (Museu Paraense Emílio Goeldi), INPA (Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas), FMNH (Field Museum Natural History), MZUSP (Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo) e MNT (Museu Nacional do Rio de Janeiro). * Indica a amostra utilizada em determinado gene.

#	Tombo	Sigla/id	Locality	Estado	ND2	COI	G3PDH	TGFB2	RAG1	RAG2
1	MPEG 59653	NVA_AM	Novo Airão	Amazonas	*					
2	INPA 238	RSDA_AM	RDS Amanã	Amazonas	*					
3	MPEG 62360	COA_AM	Coari	Amazonas	*					
4	MPEG 68986	JACA_PA	Jacareacanga	Pará	*					
5	MPEG 71228	MCDO_RO	Machadinho d'Oeste	Rondônia	*	*			*	
6	MPEG 60257	JUT_AM	Jutaí	Amazonas	*					
7	INPA 1768	BOV_RR	Boa Vista	Roraima	*					
8	FMNH 391547	AMP1_AP	Amapá	Amapá	*	*			*	*
9	FMNH 391546	AMP2_AP	Amapá	Amapá	*	*			*	*
10	FMNH 391545	TAR_AP	Tartarugalzinho	Amapá	*					
11	FMNH 427143	MVF2_PE	Mata do Estado	Pernambuco	*					
12	MPEG 70494	IBA_AL	Ibateguara	Alagoas	*	*			*	*
13	MZUSP 84531	CAP_SE	Capela	Sergipe	*					
14	MPEG 70561	CUR_PA	Curuçá	Pará	*	*			*	*
15	MPEG 61598	QUE_MT	Querência	Mato Grosso	*	*			*	*
16	FMNH 391549	MEL_PA	Melgaço	Pará	*	*			*	*
17	MZUSP 83685	PMZ_PA	Porto de Moz	Pará	*	*			*	*
18	LSUMZ 5470	PERU_SM	San Martín	Peru	*					
19	FMNH 394508	TRIN1_TB	Trinidad e Tobago	Tobago	*					
20	FMNH 394504	TRIN2_TB	Trinidad e Tobago	Tobago	*					

21	FMNH 394505	TRIN3_TB	Trinidad e Tobago	Tobago	*			
22	TCAHZ00024	MPF1_PB	Mata Pau Ferro, Areia	Paraíba	*	*		
23	TCAHZ00031	MPF2_PB	Mata Pau Ferro, Areia	Paraíba	*	*	*	
24	TCAHZ00033	MPF3_PB	Mata Pau Ferro, Areia	Paraíba	*	*		
25	TCAHZ01313	UBA1_CE	Sede do Parque Nacional de Ubajara	Ceará	*	*	*	
26	TCAHZ01314	UBA2_CE	Sede do Parque Nacional de Ubajara	Ceará	*	*	*	
27	TCAHZ01326	UBA3_CE	Sede do Parque Nacional de Ubajara	Ceará	*			
28	TCAHZ00388	BONBA_PE	Barra azul, Bonito	Pernambuco	*	*		
29	TCAHZ00411	BONBR_PE	Brejão, Bonito	Pernambuco	*	*		
30	TCAHZ01009	MAC1_PB	Mata do Açude Cafundó, Cruz do Espírito Santo	Paraíba	*	*	*	
31	TCAHZ01034	MAC2_PB	Mata do Açude Cafundó, Cruz do Espírito Santo	Paraíba	*	*	*	
32	TCAHZ01041	MAC3_PB	Mata do Açude Cafundó, Cruz do Espírito Santo	Paraíba	*	*		
33	TCAHZ00539	BMD_PE	Mata do Bitury, Brejo da Madre de Deus	Pernambuco	*	*		
34	TCAHZ01270	MVF1_PE	Mata do Estado, São Vicente Férrer	Pernambuco	*	*	*	
35	TCAHZ01291	ALD_PE	Aldeia Km 12, Camaragibe	Pernambuco	*	*	*	
36	TCAHZ01230	PAC1_PB	RPPN Pacatuba, Sapé	Paraíba	*	*	*	
37	TCAHZ01245	PAC2_PB	RPPN Pacatuba, Sapé	Paraíba	*	*	*	
38	TCAHZ01309	JAC1_BA	Cachoeira do Itatu, Jacobina	Bahia	*	*	*	
39	TCAHZ01310	JAC2_BA	Cachoeira do Itatu, Jacobina	Bahia	*	*		
40	MNT549	IRA1_BA	Iramaia	Bahia	*	*	*	
41	MNT628	IRA2_BA	Iramaia	Bahia	*		*	
42	MNT763	PRK1_TO	Presidente Kennedy	Tocantins	*	*	*	
43	MNT770	PRK2_TO	Presidente Kennedy	Tocantins	*	*	*	
44	D.A 01321	IGR_BA	APA do Pratigi - Ecopolo II, Igrapiúna	Bahia	*	*	*	
45	AY136620.1	<i>Chiroxiphia caudata</i>			*			
46	GU985492.1	<i>Chiroxiphia linearis</i>			*			

Análises filogenéticas e datação

Os eletroferogramas provenientes do sequenciamento foram verificados e editados, assim, sequências consenso foram obtidas utilizando o programa Codoncode Aligner v.6.0.2 (Codoncode Inc.). As sequências foram alinhadas utilizando o método CLUSTAL W (Higgins *et al.*, 1994) no programa MEGA6 (Tamura *et al.*, 2011). O tamanho das sequências após os alinhamentos e cortes foi de 903 pb de ND2, 618 pb do COI, 403 pb de G3PDH, 490 pb de TGFB2, 1973 do RAG-1 e 1008 pb do RAG-2.

Os alinhamentos foram inspecionados e corrigidos visualmente, tanto os mitocôndriais como os nucleares. Os sítios heterozigotos presentes nos íntrons nucleares foram inicialmente codificados com o código de nucleotídeos ambíguos da International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) onde houvesse picos duplos em ambas as fitas. Para a reconstrução dos alelos dos indivíduos heterozigotos dos íntrons nucleares foi utilizado o algoritmo PHASE (Stephens *et al.*, 2001) no modo default no programa DnaSP 6 (Librado & Rozas, 2009). Para as análises foram considerados somente haplótipos com alta probabilidade no PHASE ($p > 0,7$), os demais indivíduos com baixa probabilidade foram removidos das análises seguintes.

Análises filogenéticas foram realizadas com o gene mitocondrial ND2. Uma árvore mitocondrial foi obtida por inferência Bayesiana usando MrBayes 3.1.2 (Huelsenbeck & Ronquist, 2001). A análise Bayesiana consistiu de 10 milhões de gerações para 2 pistas independentes com 4 cadeias de Markov Monte Carlo (MCMC) cada. Foi utilizado um burn-in de 500 mil, depois que as árvores foram amostradas a cada 500 gerações. O Tamanho Efetivo da amostra (valores da ESE > 200) foi verificado no Tracer 1.6 (<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>).

Redes de haplótipos foram geradas pelo método median-joining network (Bandelt *et al.*, 1999) no programa NETWORK 5 (www.fluxusengineering.com) com os genes mitocondriais e com cada um dos íntrons e proteínas nucleares com intuito de avaliar a estrutura genética das amostras analisadas, bem como sua distribuição geográfica. Os genes nucleares TGFB2 e RAG-1 apresentaram baixíssima variação, com apenas dois alelos, o que nos impossibilitou gerar uma rede de haplótipos, bem como de realizar estatísticas sumárias com esses genes.

O tempo de divergência foi estimado utilizando o método coalescente de múltiplas espécies implementado no BEAST 1.8.2 (Drummond & Rambaut, 2007). Foi gerado um arquivo de entrada em BEAUTI, considerando o gene mitocondrial ND2, e aplicado o

modelo evolutivo de substituição HKY (Hasegawa *et al.*, 1985). Utilizamos um relógio stricto com processo de Yule e uma árvore inicial de UPGMA. Dado o escasso registro fóssil do grupo Pipridae e o problema geral da correlação de eventos de divisão e acontecimentos passados específicos para o grupo de aves como um todo, foi utilizada a taxa de mutação de genes mitocondriais disponível para estimar datas de divergência em aves (Lovette, 2004; Weir & Schluter, 2008). Esta taxa de mutação foi de 2% ($\pm 0,01$) por linhagem por milhões de anos. A corrida no BEAST foi de 100 milhões de gerações, com parâmetros amostrados a cada 5.000 gerações e um burn-in de 10% (Smith and Klicka, 2010). A convergência entre as execuções e análises de desempenho foram checadas utilizando o Tracer 1.6, e os valores da ESS (Effective Sample Size) foram > 200 . A árvore consenso com os tempos de divergência foi visualizada no Figtree 1.4.2 (<http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>).

Sequências provenientes do GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>) foram utilizadas como outgroup para enraizar as árvores (AY136620.1 e GU985492.1, Tab.1).

Análises genéticas de populações

Para avaliar a divergência nucleotídica (Dxy e Da) entre as linhagens dos filogrupos encontrados nas análises filogenéticas, usamos as equações padrão (Nei, 1987) no DnaSP v 5.10.01 (Librado & Rozas, 2009), utilizando o gene mitocondrial ND2. Onde Dxy é o número médio de substituições de nucleotídeos por local entre as populações e Da é o número de substituições de nucleotídeos líquido por local entre as populações.

A diversidade nucleotídica por sítio (π) que mede o grau de polimorfismo dentro da população (Huang *et al.*, 1998), foi calculada no Arlequin 3.1. Para detectar possíveis sinais de expansão demográfica nós aplicamos o teste de neutralidade Tajima (Tajima, 1989) e Fs (Fu, 1997) usando também o Arlequin 3.1 (Excoffier *et al.*, 2005), ambos os testes são baseados no modelo de infinitos sítios, onde cada mutação ocorre em uma base, sem recombinação (Santos *et al.*, 2013). Valores negativos significativos destas estatísticas sugerem expansão demográfica, valores de $p < 0,05$ foram utilizados como prova de saída a partir de um modelo de tamanho da população constante. O teste de mudança no tamanho da população R2 (Ramos-Onsins & Rozas, 2002) também foi realizado, utilizando o DnaSP 5. Para o teste de R2, a significância foi determinada com base em 10.000 simulações coalescentes. Foram gerados diagramas que ilustram

possíveis expansões populacionais, a partir de diferenças par a par entre as sequências, em cada um dos filogrupos encontrados (Fig.4).

Para testar o efeito das últimas máximas flutuações climáticas sobre a demografia populacional de *C. pareola* com distribuição na Floresta Atlântica, inferimos possíveis eventos de expansão demográfica pelo método Bayesiano coalescente *Extended Bayesian Skyline Plot* (EBPS Heled & Drummond, 2008; Ho & Shapiro, 2011) que foi implementado no BEAST 1.8.2 (Drummond & Rambaut, 2007), com as amostras da Floresta Atlântica com o gene mitocondrial ND2 e o intrón nuclear G3PDH. O método *Skyline Plot*, introduzido por Pybus *et al.* (2000), permite a avaliação dos padrões históricos de tamanho da população a partir de uma genealogia. Foram realizadas duas corridas independentes do EBSP (100 milhões de gerações de MCMC). Foram analisados os seguintes parâmetros: uma árvore inicial de UPGMA, modelo linear, parâmetros amostrados a cada 5.000 gerações. Utilizamos o relógio stricto e a calibração com a taxa de mutação conhecida para o DNA mitocondrial em aves de 2% ($\pm 0,01\%$) por sítio por linhagem por milhão de anos (Weir & Schluter, 2008). O desempenho da MCMC e a convergência entre as corridas foram analisados no TRACER 1.6 (<http://beast.bio.ed.ac.uk/Tracer>) para termos certeza de que os valores de ESS eram maiores que 200. A plotagem dos gráficos (EBSPPlot) foi realizada no software Rstudio, através de um bloco de comandos com a função EBSPlot.

Modelagens de distribuição

Foram utilizados 179 pontos de ocorrência ao longo de toda a distribuição da espécie *C. pareola* (Anexo 1), estes pontos estão distribuídos em 18 estados brasileiros: Acre, Alagoas, Amapá, Amazonas, Bahia, Ceará, Espírito Santo, Maranhão, Mato Grosso, Pará, Paraíba, Pernambuco, Piauí, Rio Grande do Norte, Roraima, Rondônia, Sergipe e Tocantins. Além dos pontos no Brasil também foram utilizados pontos de distribuição na Bolívia, Equador, Guiana Francesa, Guyana, Suriname e Venezuela.

Os pontos de ocorrência utilizados foram provenientes da Coleção de Aves Heretiano Zenaide (CAHZ) da Universidade Federal da Paraíba, da Universidade Estadual de Feira de Santana (UEFS), do Museu de Zoologia da Universidade de São Paulo (MZUSP), da Coleção de Aves do Museu Paraense Emílio Goeldi (MPEG), do Museu Nacional do Rio de Janeiro (MNRJ), Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Field Museum of Natural History (FNMH), Universidade Estadual de Campinas

(Unicamp) e dos bancos de dados online Xenocanto (<http://www.xeno-canto.org/>), Fonoteca Neotropical Jacques Viellard (FNJV, <http://www2.ib.unicamp.br/fnjv/>), Macaulay Library (Cornell, <http://macaulaylibrary.org/>) e Wikiaves (<http://www.wikiaves.com.br/>).

Inicialmente, retiramos todas as localidades repetidas da planilha e em seguida conferimos todos os pontos no software Google Earth assegurando assim, que as coordenadas não estavam localizadas em regiões densamente urbanizadas, ou em áreas que não representassem um habitat conhecido da espécie.

Estimamos os modelos de distribuição de nicho no presente e durante flutuações climáticas do quaternário, empregando algoritmo o MAXENT (Maximum Entropy Machine-learning Algorithm) (Phillips *et al.*, 2004, 2006; Elith *et al.*, 2011). Adquirimos variáveis climáticas do presente, do Holoceno [6 Kyr BP], do Último Glacial Máximo [21 Kyr BP, LGM] e do Último Interglacial [120-140 Kyr BP, LIG] através do WorldClim (disponível em: <http://www.worldclim.org/> Hijmans *et al.*, 2005). Além das variáveis climáticas, a modelagem do presente também foi realizada com a altitude (Anexo 2).

Modelos de distribuição de nicho (de espécies) requerem dois conjuntos distintos de dados: 1) informações de ocorrência das espécies de interesse (localidades georreferenciadas); 2) e as camadas abióticas (GIS). O algoritmo no Maxent funciona encaixando uma ocorrência probabilística da distribuição de uma espécie para o conjunto de pixels da região de interesse (Merow *et al.*, 2013). Para uma explicação detalhada sobre a forma como o princípio de entropia máxima se aplica a modelos de distribuição de nicho, consulte Phillips *et al.* (2006), Elith *et al.* (2011).

Para evitar uma super-parametrização com redundância de variáveis climáticas, uma matriz de correlação entre as variáveis foi construída utilizando o R. O excedente de variáveis com alta correlação ($r > 0.8$) foi eliminado, de modo que apenas uma variável desse conjunto foi utilizada nos modelos. Após analisar as variáveis ficamos com onze climáticas no presente, seis no LIG e Holoceno e oito variáveis no LGM. Um procedimento similar foi realizado com sucesso por de Araújo *et al.* (2014).

Geramos as predições de cada mapa individualmente. Trabalhamos em todos os testes com 179 pontos de ocorrência bem distribuídos ao longo da distribuição da espécie. Finalizamos construindo dez réplicas do tipo *Bootstrap* (com reamostragem) em cada período (Terribile *et al.*, 2010), com 25% dos pontos aleatórios para obter um mapa final

com a média das réplicas. As imagens (mapas) dos modelos foram geradas no software QGIS 2.8.1 (<http://www.qgis.org/en/site/>).

Para ilustrar possíveis rotas de conexão entre as populações da Amazônia e Mata Atlântica, construímos mapas atribuindo os valores de Thresholds (mínimo valor de probabilidade do modelo que representa o habitat adequado). Usamos quatro valores de Thresholds: A) presença mínima formação limiar logística; B) equilíbrio formação omissão, área limiar prevista e valor logística limiar; C) 10% presença limiar formação logística e D) sensibilidade e especificidade iguais formação limiar logística. Segundo Young *et al.* (2011), não há regra definida para definir esses limites e como decidir um limiar pode depender dos dados utilizados, ou do objetivo do mapa variando de espécie para espécie. A decisão final deve ser tomada tendo todas estas considerações em conta e com um bom entendimento das espécies de interesse. Para dar suporte a rotas propostas, confrontamos os resultados com informações de localização de trabalhos palinológicos (Oliveira *et al.*, 1999) que evidenciam possibilidade de ocorrência pretérita de florestas úmidas no nordeste brasileiro, com uma ocorrência relictual de *Neomorphus geoffroyi* (Roos *et al.*, 2012), uma espécie de ave dependente de ambiente florestal, com distribuição disjunta entre a Amazônia e Mata Atlântica, além de observações das probabilidades de ocorrência atual geradas na modelagem e confrontadas com a ocorrência conhecida da espécie. Nós também utilizamos informações de sedimentações cíclicas em cavernas no nordeste brasileiro (Wang *et al.*, 2004; Auler *et al.*, 2009) para auxiliar nas inferências sobre períodos climáticos.

RESULTADOS

Estrutura genética

O modelo evolutivo HKY+I foi selecionado para as análises filogenéticas, pois se ajustou melhor aos dados. Foram observados 75 sítios polimórficos e 19 haplótipos em ND2, 44 sítios polimórficos e 5 haplótipos em COI. Sete sítios polimórficos foram encontrados no intrón nuclear G3PDH, que permitiu identificar seis haplótipos, já em RAG-2, quatro sítios polimórficos foram encontrados e quatro haplótipos foram identificados. Não foram observados indels nas amostras sequenciadas. Quando o gene mitocondrial foi traduzido para aminoácidos não foi observado nenhum códon de parada, suportando que são sequências mitocondriais.

Cinco filogrupos foram encontrados em *C. pareola* e foram bem suportados na árvore filogenética (Fig. 2) com base no gene mitocondrial ND2. O filogrupo *C. p. napensis* foi bem suportado com probabilidade posterior Bayesiana (PP) igual a 1, o que também aconteceu com os grupos *C. p. regina* e *C. p. pareola* do Norte da AM juntamente com o *C. p. atlantica*. O filogrupo *C. p. pareola* correspondente ao leste amazônico foi suportado com o valor de PP = 1. O valor de PP do filogrupo do Ceará e Floresta Atlântica foi 0,59 (Figura 2).

A rede de haplótipos oriunda do gene mitocondrial ND2 corroborou os cinco filogrupos que foram geograficamente estruturados (Fig. 3): 1) o filogrupo *C. p. napensis* compreende a amostra com distribuição no Peru (cor rosa); 2) o filogrupo *C. p. regina* (cor amarela) abrange a maior parte Sul da Amazônia a oeste do rio Tapajós, bem como localidades a Noroeste do Rio Negro (Snow, 2016); 3) o filogrupo de *C. p. pareola* do norte amazônico com *C. p. atlantica*, representado em azul; 4) o filogrupo *C. p. pareola* do leste amazônico (em verde); 5) o filogrupo com as amostras do Ceará (em laranja) e da Floresta Atlântica (em vermelho). No entanto, o número de passos entre esses dois últimos filogrupos foi muito baixo quando comparado entre os outros filogrupos. A diferença entre o filogrupo do Ceará e do leste amazônico foi de um passo, enquanto diferença entre o filogrupo do Ceará e da Floresta Atlântica foi de dois passos. Ainda, no próprio filogrupo do Ceará, uma das amostras apresentou uma diferença de quatro passos. Os demais filogrupos apresentam diferenças de 21 ou mais passos entre si na rede de haplótipos (Fig. 3c). A rede gerada pelo DNAmT COI também estruturou grupos similares. A rede nuclear do G3PDH com amostras do Leste AM e AF não estruturou e a rede do RAG-2 apresentou uma separação entre grupo de *C. p. atlantica* e *pareola* Norte com as demais sequências do Leste AM e AF, como observado nas redes mitocondriais.

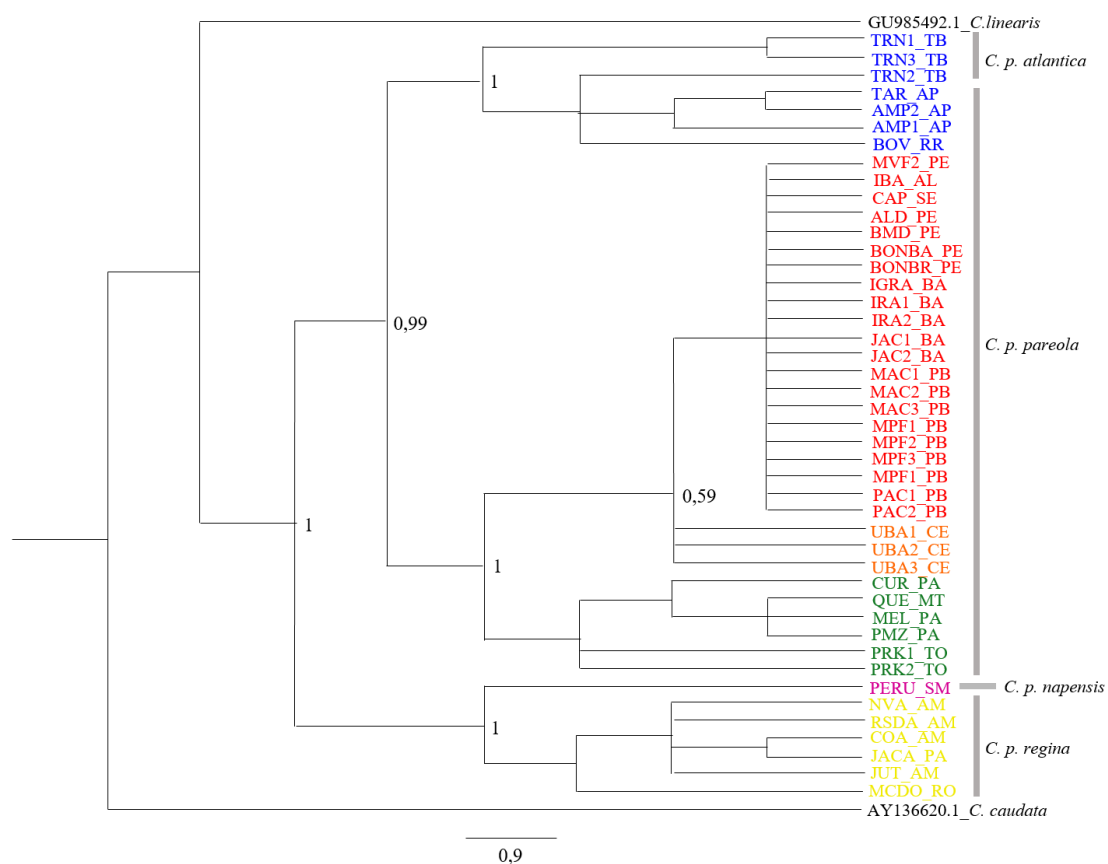


Figura 2. Árvore filogenética com inferência Bayesiana com o gene mitocondrial ND2. As cores referem-se aos filogrupos na espécie politípica *Chiroxiphia pareola* representados no mapa da Figura 3.

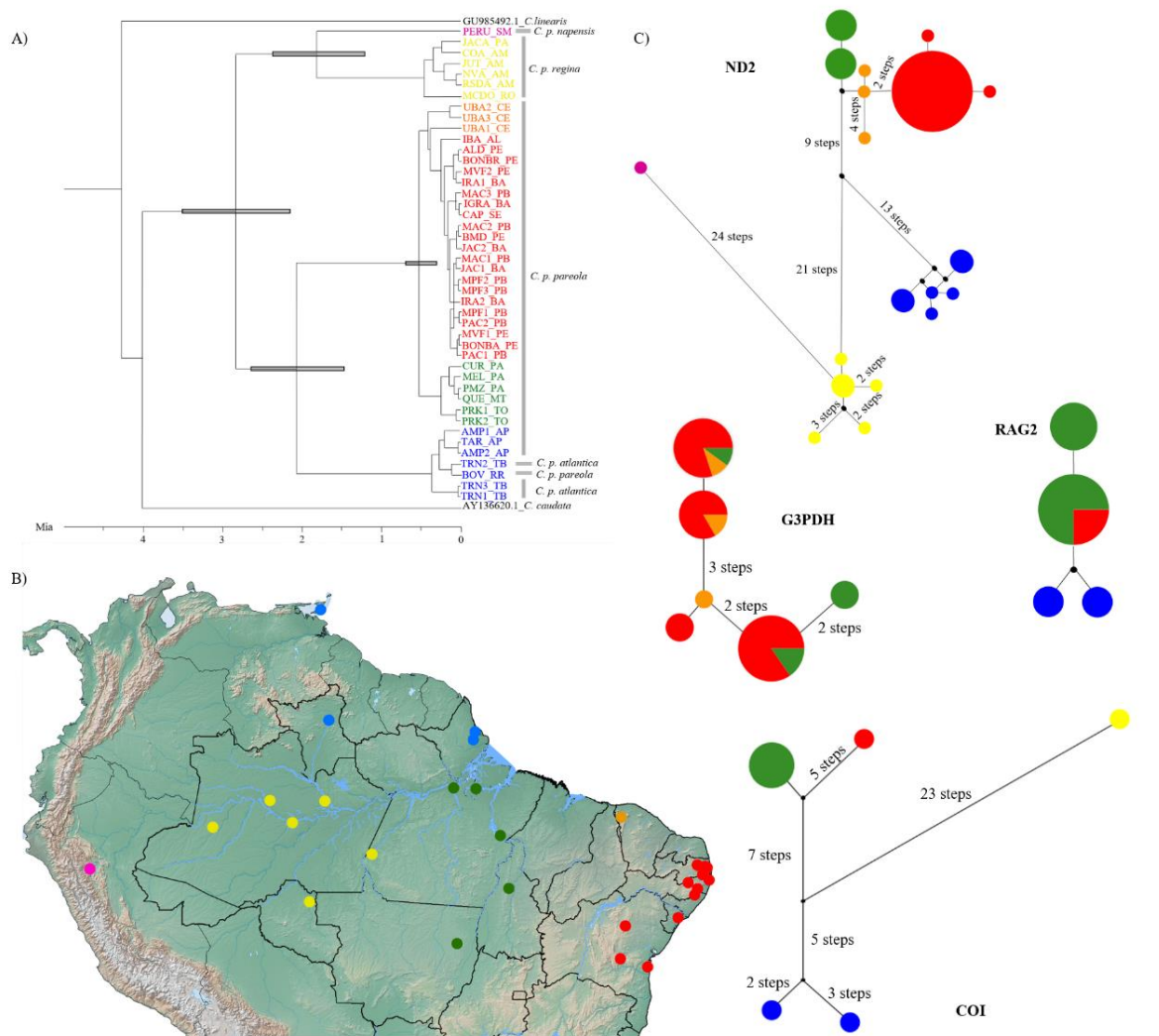


Figura 3. A) Hipótese filogenética e tempo de divergência entre as linhagens de *Chiroxiphia pareola*, com inferência Bayesiana baseada no gene ND2. As barras em cinza indicam o intervalo do tempo de divergência (taxa do relógio de $2\% \pm 0,01$). B) mapa com as localidades das amostras utilizadas de *Chiroxiphia pareola*, onde cada cor é correspondente a filogenia. As linhas em azul no mapa, indicam a hidrografia. C) redes de haplótipos baseadas em 904 pb de ND2, 618 pb para do COI, 403 pb de G3PDH e 1008 pb do RAG-2. Cada círculo representa um haplótipo e seu tamanho representa sua frequência na rede. As linhas representam as relações entre os haplótipos que diferem em mutações e o tamanho da linha corresponde a distância entre essas populações (steps). As cores representam os filogrupos observados na árvore e as localidades no mapa.

Estimativa de tempo de divergência

A estimativa da primeira divergência das linhagens de *C. pareola* indica que ocorreu no Plioceno (cerca de 2,8409 Mya, valor médio; 95% da maior densidade posterior [HPD] =

2,2114-3,5473) com a separação da linhagem que originou os filogrupos da AM Norte, Leste, Tobago e AF (*C. p. pareola* e *C. p. atlantica*) da linhagem que originou os filogrupos do restante da Amazônia (*C. p. regina* e *C. p. napensis*). A datação ainda sugere que a segunda divergência se deu no Pleistoceno Inferior (valor mediano 2,0695 Mya; 95% da maior densidade posterior [HPD] = 1,5027-2,6913) originando a linhagem de *C. p. pareola* do norte amazônico mais *C. p. atlantica* e a linhagem de *C. p. pareola* do leste amazônico, Ceará e Floresta Atlântica. A Divergência entre *C. p. regina* e *C. p. napensis*, foi estimada em torno de 1,819 Mya (valor médio; 95% da maior densidade posterior [HPD] = 1,2662-2,4161). Por fim a divergência mais recente ocorreu entre as populações de *C. p. pareola* do leste amazônico e da Floresta Atlântica, estimada em 0,5201 Mya (valor médio; 95% da maior densidade posterior [HPD] = 0,3277-0,7457) (Figura 3a).

Diversidade, padrões genéticos e demografia populacional

Os níveis de divergência nucleotédica entre as linhagens de *C. pareola* variou de 0,362% a 3,582% (Da), com os valores mais elevados observados entre *C. p. napensis/regina* e *C. p. pareola/atlantica* e as menores divergências detectadas entre *C. p. pareola* (Leste AM e Ceará) e *C. p. pareola* (AF) (Tab. 2).

Tabela 2. Porcentagem de divergência de nucleotídica (ND2) entre linhagens de *Chiroxiphia pareola* (ver Fig. 3). Dxy = número médio de substituição de nucleotídeos por local entre as populações; Da = número de substituição de nucleotídeos líquido por local entre as populações.

Linhagens	Dxy (%)	Da (%)
<i>C. p. napensis/regina</i> vs. <i>C. p. pareola/atlantica</i>	4,922	3,582
<i>C. p. napensis</i> vs. <i>C. p. regina</i>	3,450	3,235
<i>C. p. pareola/atlantica</i> (Norte) vs. <i>C. p. pareola</i> (Leste AM e AF)	3,403	3,086
<i>C. p. pareola</i> (Leste AM e Ceará) vs. <i>C. p. pareola</i> (AF)	0,567	0,362

A diversidade de nucleotídeos por sítio (π) do ND2 apresentou maiores valores nos filogrupos *C. p. napensis/regina* e *C. p. atlantica/pareola* (Norte) (Tabela 3, valores de $\pi = 0,012929 \pm 0,007740$ e $\pi = 0,003902 \pm 0,002641$). O filogrupo *C. p. pareola* (Leste AM e AF) apresentou um valor mais baixo de π ($0,002900 \pm 0,001796$). Observando as populações separadamente, a população de *C. p. regina* apresentou maior diversidade de nucleotídeos ($\pi = 0,004301 \pm 0,002977$), seguida da população Leste amazônica de *C. p. pareola* ($\pi = 0,001107$

$\pm 0,001011$). A população com menor valor de diversidade nucleotídica foi *C. p. pareola* (AF) com $\pi = 0,000531 \pm 0,000535$ (Tab. 3).

Os testes Tajima's D, Fu's Fs de ND2 sugerem expansões demográficas significativa em todos os filogrupos testados (Tab. 3, Fig. 4). No entanto, os valores do teste e R2 com esse gene não apresentam significância ($p < 0,05$) em nenhum dos filogrupos. Os valores de todos os testes com os demais genes não revelaram valores significativos (Tab. 3). A distribuições *Mismatch* dos haplótipos de cada filogrupo por genes utilizados podem ser observados na Figura 4.

Tabela 3. Índices de diversidade nucleotídica dos genes ND2, COI, G3PDH e RAG-2 de *Chiroxiphia pareola*, diversidade de nucleotídeo por sítio (π e desvio padrão), Tajima'D, Fu's Fs e as estatísticas Ramos-Onsins e Rozas (R2).

Filogrupo	Loco	N	Ha	π (%)	Tajima's D		Fu's Fs		R2	
					Obs.	P	Obs.	P	Obs.	P
<i>C. p. napensis/regina</i>	ND2	7	6	0,012929 $\pm$ 0,007740	-1,63580	0,01010*	-1,63167	0,10630	0,2425	0,0534
<i>C. p. regina</i>	ND2	6	5	0,004301 $\pm$ 0,002977	-1,12062	0,16820	-3,12788	0,01000*	0,1264	0,2933
<i>C. p. atlantica/pareola</i> (Norte)	ND2	7	5	0,003902 $\pm$ 0,002641	0,34514	0,63840	-2,20039	0,04760*	0,1883	0,3165
<i>C. p. pareola</i> (Leste AM e AF)	ND2	30	11	0,0029 $\pm$ 0,001796	-1,33547	0,08030	-13,70781	0,00000*	0,0749	0,5682
	COI	5	2	0,004983 $\pm$ 0,003639	-0,74682	0,32750	0,33158	0,30130	0,3455	0,231
	G3PDH	17	6	0,006483 $\pm$ 0,003934	1,61814	0,94700	1,57466	0,78400	0,1912	0,5325
	RAG-2	5	2	0,002077 $\pm$ 0,002544	-0,81650	0,30800	0,09021	0,30090	0,4000	0,7714
<i>C. p. pareola</i> (Leste AM)	ND2	6	3	0,001107 $\pm$ 0,001011	0,31063	0,65960	-6,82535	0,00000*	0,2392	0,4327
<i>C. p. pareola</i> (AF)	ND2	21	5	0,000531 $\pm$ 0,000535	-1,98137	0,00520*	-11,07550	0,00000*	0,1052	0,9018
	G3PDH	13	4	0,006355 $\pm$ 0,003908	1,98088	0,97920	3,23254	0,92710	0,2187	0,4832

N: Tamanho amostral; Ha: número de haplótipos; * valores significantes.

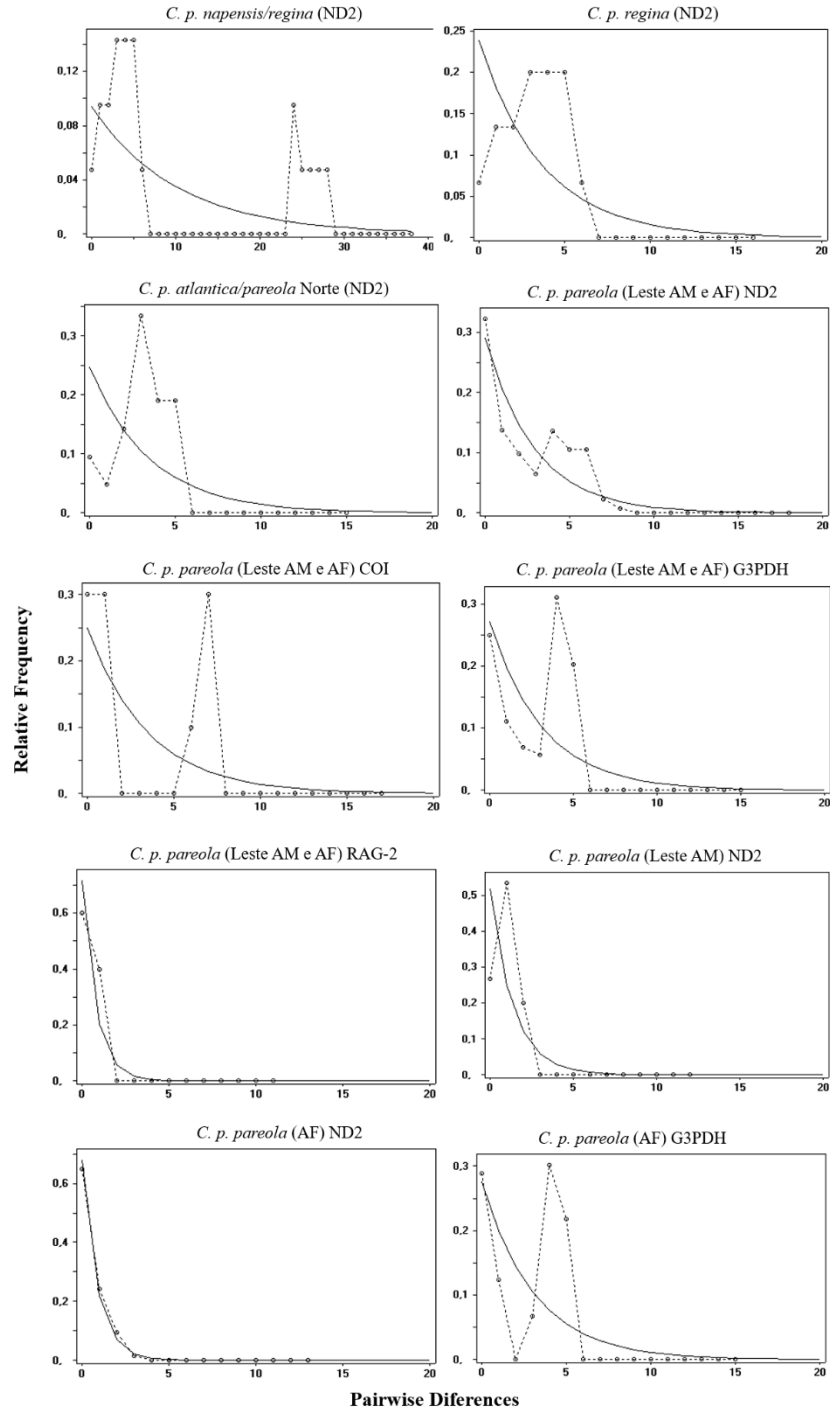


Figura 4. Os gráficos mostram as diferenças par a par entre as sequências e os picos mostram quando muitas sequências apresentam o mesmo número de diferenças, podendo indicar assim uma possível expansão populacional. As linhas tracejadas representam os dados observados, enquanto as linhas sólidas representam os valores esperados. AM - Amazônia; AF - Floresta Atlântica.

A análise de estimativa de demografia histórica da população com distribuição na Floresta Atlântica, através do EBSP, evidenciou uma estabilidade demográfica no intervalo entre os últimos 120 mil e seis mil anos (Fig. 5). Um sinal de expansão ocorreu apenas nos últimos seis mil anos, a partir do Holoceno (Fig. 5).

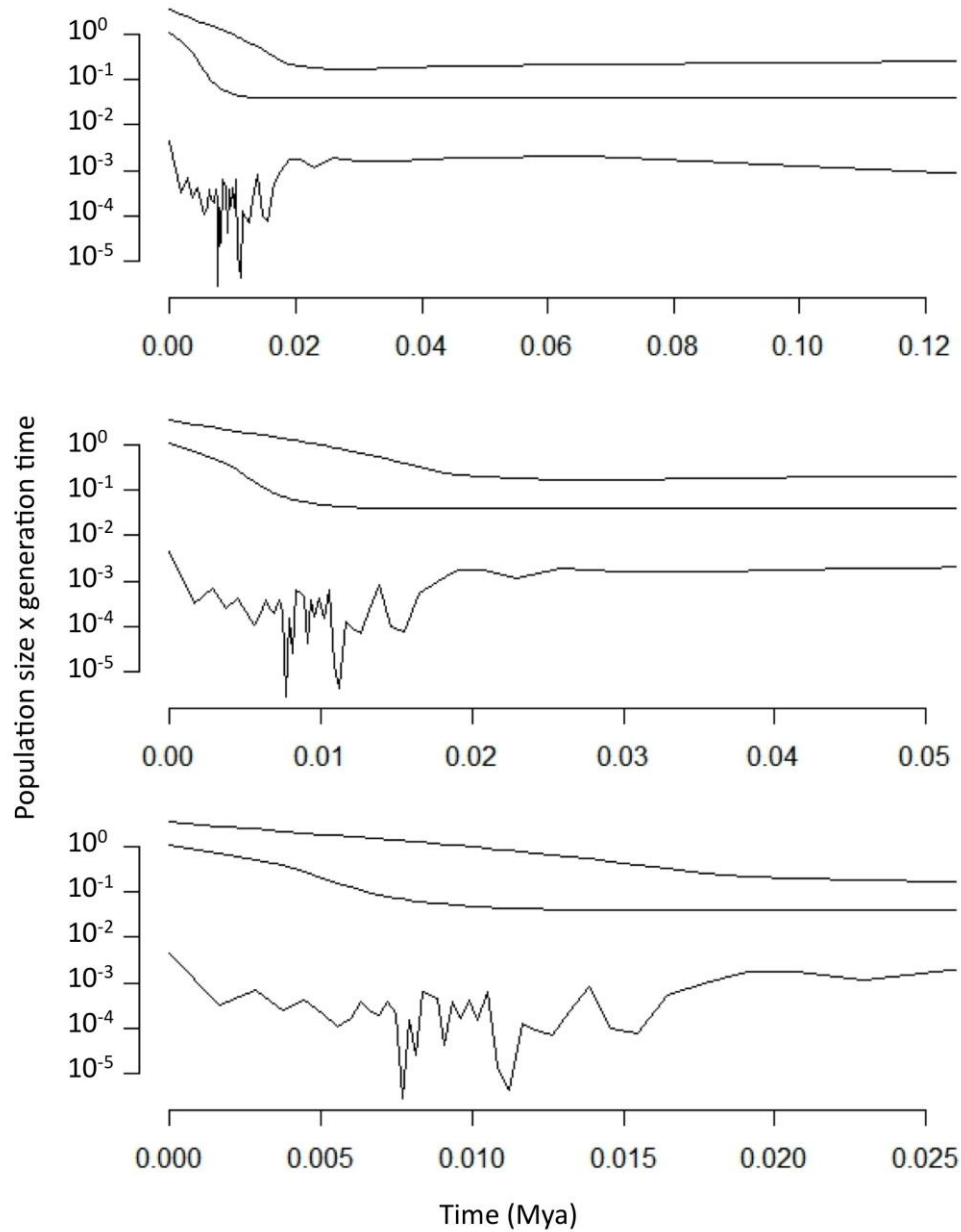


Figura 5. Estimativa do *Extended Bayesian Skyline Plot* (EBSP) de demografia histórica da população de *Chiroxiphia pareola* com distribuição na Floresta Atlântica. A linha do meio representa a média da estimativa; e as linhas superior e inferior os limites superior e inferior de 95% de HPD (Highest Posterior Density), respectivamente; o eixo Y está em escala logarítmica.

Modelagens climáticas do quaternário e distribuição ancestral potencial de *Chiroxiphia pareola*

As modelagens de distribuição dos períodos presente, Holoceno, LGM e LIG tiveram valores de AUC de 0.939, 0.933, 0.921 e 0.905, respectivamente (Figura 6). Esses valores afastam-se consideravelmente da reta (média) de aleatoriedade e aproximam-se mais de 1, ou seja, esses valores demonstram que os modelos possuem baixa probabilidade de serem explicados ao acaso (Anexo 3).

As variáveis que mais influenciaram o modelo do presente foram BIO9 (Mean Temperature of Driest Quarter) com 26.4% de contribuição, seguida de BIO2 (Mean Diurnal Range (Mean of monthly (max temp - min temp))) com 17.4%, BIO19 (Precipitation of Coldest Quarter) com contribuição de 10.8%, e a altitude com contribuição de 9.1% (Tab. 4). No Holoceno, a variável que mais influenciou foi BIO4 (Temperature Seasonality (standard deviation *100)), com uma contribuição de 46,6%, seguida de BIO2 e BIO16 (Precipitation of Wettest Quarter), com 23% e 12.1% respectivamente. No LGM, a variável BIO9 foi a que mais contribuiu com o modelo com 26.4%, seguida de BIO7 (Temperature Annual Range (BIO5-BIO6)) com 22.6% de contribuição e a BIO3 (Isothermality (BIO2/BIO7) (* 100)), com 14.8%. A variável que mais contribuiu para o modelo no LIG foi BIO2 com 51.3%, essa variável também contribuiu bastante nos modelos do presente, Holoceno e LGM com 17.4%, 23% e 11.2% respectivamente. Outra variável que contribuiu consideravelmente no modelo do LIG foi a BIO19, com 15.5% (Tab. 4).

Os modelos apresentados na Figura 6, demonstram uma probabilidade climática de conexão entre as populações de *C.pareola* do leste da Amazônia e AF, próximo ao litoral norte durante o Holoceno e LIG, bem como manchas de probabilidade mais ao sul da região nordeste, também durante o LIG. No entanto, uma alta probabilidade de parâmetros climáticos para a ocorrência da espécie próximo ao litoral norte do nordeste brasileiro também pode ser observada no modelo do presente, embora a espécie não ocorra nesses locais (Fig. 6a). Uma probabilidade de conexão de habitat climaticamente adequado entre Amazônia e Mata Atlântica também pode ser observada na região sudeste do Brasil durante o LGM e LIG (Fig. 6c, d).

Quando comparamos a distribuição potencial entre os quatro períodos analisados, principalmente durante o LGM (21 Kyr bp.), Holoceno (6 Kyr BP) e presente, podemos observar uma estabilidade climática nas áreas correspondentes a distribuição de *C. pareola* no Escudo das Guianas, no Sudoeste amazônico, no leste da Amazônia e na Floresta Atlântica.

Ainda, podemos verificar uma aumento em área climaticamente adequada durante o LGM, em toda área de distribuição.

Tabela 4. Percentual de contribuições das variáveis climáticas, nos modelos de distribuição de *Chiroxiphia pareola* durante quatro períodos estudados (presente, Holoceno, LGM e LIG).

Contribuição Percentual (%)				
Variáveis	Presente	Holoceno	LGM	LIG
BIO2	17.4	23	11.2	51.3
BIO3	8.8	-	14.8	-
BIO4	-	46.6	-	14.4
BIO5	5	-	-	-
BIO7	4.4	-	22.6	-
BIO9	26.4	-	-	-
BIO14	-	-	4.6	4.5
BIO15	2	1.2	7.3	6.9
BIO16	4.2	12.1	-	-
BIO17	3.3	5.7	4.4	-
BIO18	8.6	11.3	8.8	7.4
BIO19	10.8	-	26.4	15.5
ALT*	9.1	-	-	-

* A variável altitude foi utilizada apenas no modelo de distribuição do presente.

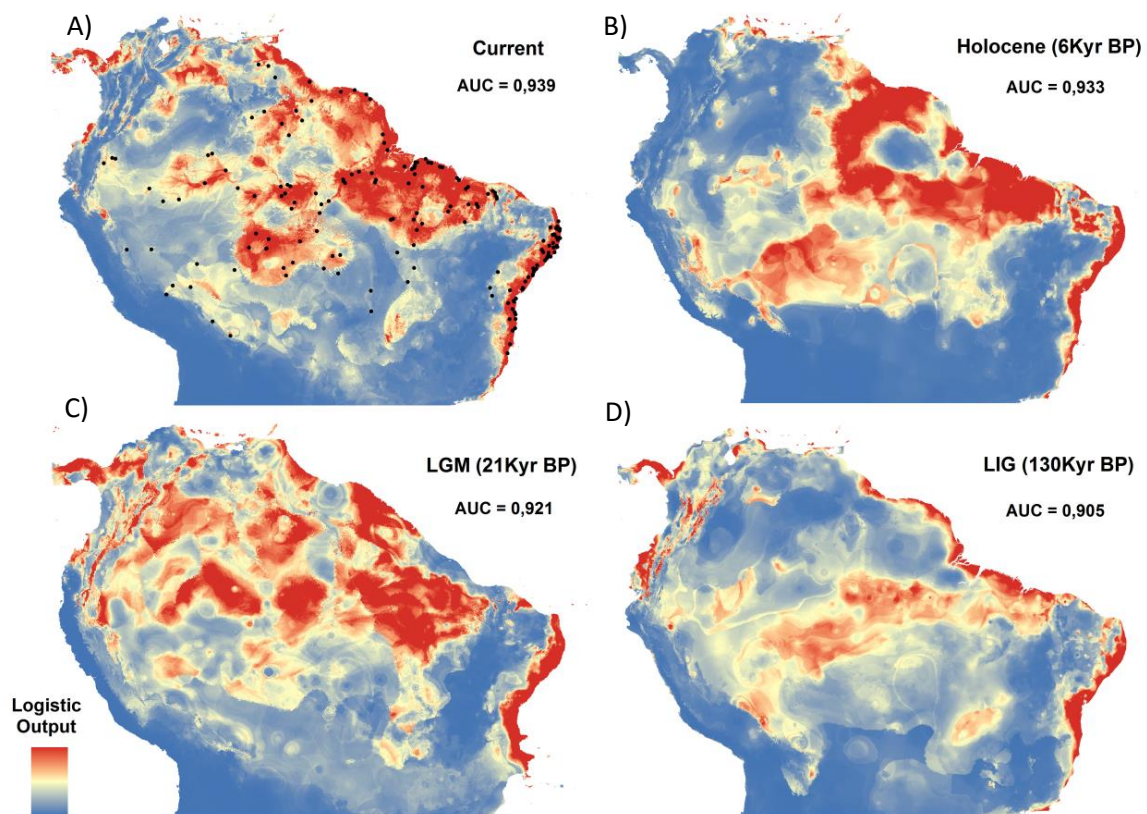


Figura 6. Modelos de distribuição de nicho ecológico de *Chiroxiphia pareola* no presente (Current), Holoceno (Holocene) (6Kyr), LGM (21Kyr) e LIG (130kyr). A cor azul indica baixa adequação, enquanto a cor vermelha indica maior probabilidade de ocorrência da espécie. Os pontos pretos dispostos no modelo do presente indicam a ocorrência atual de *Chiroxiphia pareola*. AUC indica o valor de performance do modelo.

Interpretando dados genéticos, ecológicos e de modelagens de distribuição para propor rotas de conexão entre as populações da Amazônia e Mata Atlântica.

Embora nenhuma das modelagens possam ter sido realizada antes dos 500 mil anos estimados de divergência entre as populações do leste amazônico e da Floresta Atlântica, usamos os limites mínimos de distribuição dos modelos do LIG para apresentar proposta de rotas de conexão entre as populações da Amazônia e Floresta Atlântica, pois condições climáticas similares são citadas na literatura entre esse período e os prováveis estimados no Pleistoceno Médio.

Os dados observados dos thresholds do LIG (Fig. 7) apresentaram em: A) a mais extensa probabilidade de conexão de populações de *C. pareola* em relação aos demais observados (B, C e D), que compreende toda distribuição atual da espécie e possíveis conexões através do litoral norte do nordeste brasileiro, das regiões norte e do sul da Chapada Diamantina, na região

central, e da região sudeste do Brasil, ao sul da distribuição atual; B) mostrou a uma probabilidade bem semelhante ao threshold A, exceto por não ter apresentado uma possibilidade de ocorrência ao sul da Chapada Diamantina e na região sudeste do Brasil, mas compreende toda distribuição atual da espécie. Tanto os thresholds de 10% presença limiar formação logística (C) e sensibilidade e especificidade iguais a formação limiar logística (D) não demonstraram possibilidade de conexão contínua entre a Amazônia e a Floresta Atlântica, mas também não abrangem toda distribuição atual da espécie.

Na modelagem de distribuição do presente, a probabilidade de ocorrência foi muito baixa (< 0.2) a partir de 750m de altitude (Fig. 7D), portanto, as conexões do sul da Chapada Diamantina e da região sudeste do Brasil, apontadas no threshold A, podem ser descartadas seguindo a premissa que altitudes maiores que 750m já existiam nessas regiões durante o Pleistoceno Médio, como atualmente.

Descartamos a possibilidade de conexão ao norte da região nordeste (Fig. 7D) porque: 1) a modelagem de distribuição do presente também previu alta probabilidade climática de ocorrência da espécie em áreas dessa região onde ela não ocorre; 2) existe remanescentes florestais atualmente nessa região, com habitat potencial para ocorrência de *C. pareola*, com sua avifauna bem amostrada, mas sem registro da espécie; 3) pela disponibilidade de hábitat e pelos fragmentos florestais em que a espécie ocorre atualmente, é improvável que algum evento de fragmentação e isolamento florestal tenha sido responsável pela extinção de *C. pareola* nos remanescentes atuais dessa região.

Suportamos, portanto, a rota de conexão entre as populações da Amazônia e da Floresta Atlântica na região ao norte da Chapada Diamantina e no médio rio São Francisco, onde foi possível observar probabilidades de rotas de conexão nos dois primeiros thresholds (Fig. 7 A e B), onde existe uma localidade com estudos e evidências palinológicas de ocorrência pretérita de floresta úmida, bem como onde há um registro relictual de uma espécie de ave dependente de ambiente florestal e com distribuição conhecida entre a Amazônia e Floresta Atlântica (Fig. 7E).

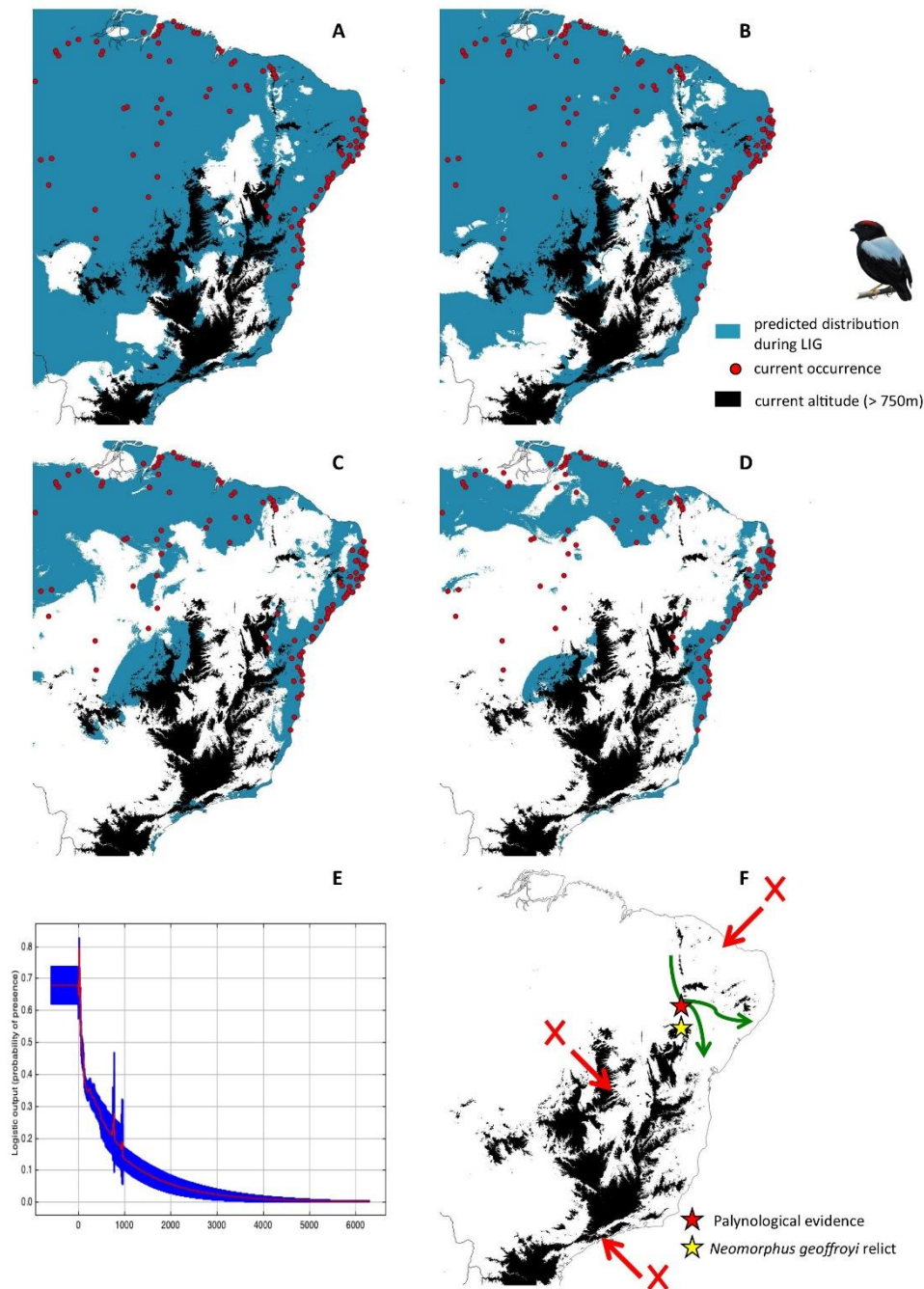


Figura 7. Detalhe de threshlods da paleodistribuição potencial de *Chiroxiphia pareola* durante o Último Interglacial Máximo (LIG). A) Minimum training presence logistic threshold (LIG); B) Balance training omission, predicted area and threshold value logistic threshold (LIG); C) 10 percentile training presence logistic threshold (LIG); D) Equal training sensitivity and specificity logistic threshold (LIG); E) Probabilidade de ocorrência atual (eixo y) em relação a altitude (eixo x em m); F) Hipóteses de rotas de conexão AM X AF: setas e X vermelho: rotas propostas e descartadas em nossa avaliação; setas verdes: rotas inferidas em nossa avaliação.

DISCUSSÃO

Diversificação espacial e relações filogenéticas em *Chiroxiphia pareola*

Nossa estimativa de tempo de divergência em *C. pareola* recuperou uma primeira ramificação por meados de 2,8 Mya, no Plioceno. Essa primeira divergência segrega os ancestrais que derivam nos grupos que ocorrem atualmente ao norte do rio Amazonas (no escudo das Guianas), a leste do rio Tapajós e na Floresta Atlântica (*C. p. pareola* e *C. p. atlantica*) dos ancestrais que derivam em *C. p. regina*, com distribuição atual entre o rio Negro e o rio Tapajós, e em *C. p. napenis*, restrita ao leste dos Andes, no Equador e Peru (Neve, 2016). Uma segunda divergência ocorreu por volta de 2,0 Mya e segregou os grupos ao norte e ao sul do rio Amazonas, cujos descendentes de um grupo ocorrem atualmente no escudo das Guianas e em Tobago, e do outro grupo ocorrem no sudeste da Amazônia (a leste do Tapajós) e na Floresta Atlântica. A cerca de 1,8 Mya, a terceira divergência, na outra linhagem, separa as populações de *C. p. regina* e *C. p. napenis*. Essas datações correspondem ao período seguinte da formação completa dos Andes e da bacia Amazônica, < 2.5 Mya (Hoorn *et al.*, 2010) e, portanto, podemos associar esses processos de diversificação a evolução do sistema de drenagem da bacia Amazônica que foi lento, iniciado no Mioceno e finalizado no Pleistoceno (Rossetti *et al.*, 2005; Campbell *et al.*, 2006; Latrubesse *et al.*, 2010; Silveira & Nogueira, 2011). Essas divergências entre 3 e 2 Mya são consistentes com processos de diversificação intensa na Amazônia observados por outros estudos (ver Aleixo, 2004; Aleixo & Rossetti, 2007; Brumfield, 2012; Ribas *et al.*, 2012a; Ribas *et al.*, 2012b, Sousa-Neves *et al.*, 2013; Castro-Astor, 2014; Thom & Aleixo, 2015; Rocha *et al.*, 2015; Cerqueira *et al.*, 2016) e, consequentemente, suportam o papel da dinâmica dos rios nos processos de diversificação amazônica (Ribas *et al.*, 2012b).

Um modelo paleobiogeográfico de diversificação na Amazônia foi proposto com a história filogeográfica do gênero *Psophia* (Ribas *et al.* (2012b). Esse modelo refuta a hipótese de refúgio como mecanismo de diversificação nesse gênero, que foi estimada entre 3 e 0,5 Mya. Por outro lado, essa diversificação foi fortemente associada a interflúvios, o que sugere que a evolução da drenagem, e não refúgios, foi o principal mecanismo de diversificação do grupo. De maneira geral, esse modelo é corroborado pelos nossos dados, quando observada a diversificação em *C. pareola*, que ocorreu entre 2,8 e 1,8 Mya, possivelmente associada a especiação alopátrica com rios como barreiras geográfica. No entanto, não suportamos a mesma história temporal de diversificação relativa a drenagem da Amazônia como modelo único de

diversificação, pois a primeira cladogênese em nossos resultados não ocorreu no sentido Norte e Sul do rio Amazonas, como apontado por Ribas *et al.* (2012b). Nossa primeira separação isolou as populações do Sul do rio Negro e Oeste do rio Tapajós das populações da região Noroeste e Sudoeste da Amazônia, similar geográfica e temporalmente ao período em que o Arco Purus separava as porções leste e oeste amazônicas (Ribas *et al.* (2012b). Na segunda cladogênese é que evidenciamos a separação entre as populações Norte e Sul do rio Amazonas, na porção leste. Portanto, embora a hipótese dos rios seja corroborada como mecanismo para geração da diversidade na Amazônia, variações geográficas e temporais nesse processo, relacionadas a histórias de populações ancestrais, podem ter ocorrido em diferentes táxons.

No filogrupo com distribuição no escudo das Guianas também está presente a população que atualmente ocorre em Tobago. Snow (1985) relata que é provável que a população isolada de *Chiroxiphia* em Tobago data da última glaciação, quando Tobago foi separado de Trinidad, e que posteriormente *C. pareola* teria sido extinta em Trinidad e em partes adjacentes da Venezuela. Nossos resultados suportam a hipótese de conexão recente, mas não de isolamento no Último Máximo Glacial (LGM), pois não encontramos estruturação genética entre essas populações e a paleodistribuição potencial durante o LGM mostra possibilidade de conexão de habitat climaticamente favorável entre o continente e a ilha, devido ao decréscimo no nível do mar (Fig. 7).

Uma quarta cladogenese na história evolutiva de *C. pareola* ocorreu bem mais recentemente que as divergências anteriores, a cerca de 0,5 Mya, durante o Pleistoceno, e ocorreu entre as populações do sudeste amazônico, a leste do Tapajós, e as populações da Floresta Atlântica nordestina. Essa divergência mais recente recuperada pela nossa filogenia é suportada por vários estudos moleculares com aves, como, por exemplo, *Pionus menstrus*, *Dendrocolaptes certhea*, *Xiphorhynchus guttatus*, *Thamnophilus aethiops*, *Pyriglena leuconota*, *Dixiphia pipra*, *Ceratopipra rubrocapilla*, *Xipholaena atropurpurea* e *Ramphoceanus melanurus* (ver d'Horta *et al.*, 2011; Maldonado-Coelho, 2012; Batalha-Filho *et al.*, 2013; Castro-Astor, 2014; Berv & Prum, 2014; Thom & Aleixo, 2015; Rocha *et al.*, 2015). Outros estudos diversos com diferentes grupos de vertebrados, incluindo anfíbios, mamíferos e outras linhagens de aves também citam a possibilidade de conexão recente entre a Amazônia e a Floresta Atlântica (Cracraft & Prum, 1988; Bates *et al.*, 1998; Cabanne *et al.*, 2008; Costa, 2003; Santos *et al.*, 2007; Mariano, 2014).

No entanto, essa separação recente parece não ter gerado diversificação ainda entre as populações amazônicas e da Floresta Atlântica de *Chiroxiphia pareola*. Pois, além da divergência genética ser baixa entre as populações, quando comparada com as divergências entre as cladogêneses anteriores, o número de mutações nas redes de haplótipos dentro dessas populações é menor entre os grupos atlânticos e amazônicos, que dentro de um desses grupos. Ainda, esse número é bem menor que o número de passos que separa as outras linhagens entre si (ver Fig. 4). De todo modo, essa baixa variação também sugere uma conexão anterior a essa cladogênese entre as populações amazônicas e da Floresta Atlântica. Entretanto, os dados de origem e diversificação durante o Mioceno de táxons associados a floresta seca no interior do nordeste brasileiro (Pennigton *et al.*, 2006; Werneck *et al.*, 2012), a proposta de estabilidade dessas florestas durante as últimas flutuações climáticas do Pleistoceno (Werneck *et al.*, 2011, 2012), as primeiras diversificações no grupo *C. pareola* ocorrendo entre 3 e 2 Mya na AM, e os resultados de expansão populacional da linhagem Leste amazônica/ Floresta Atlântica, bem como da linhagem apenas da Floresta Atlântica, sugerem que essa conexão ocorreu no Pleistoceno médio, da Amazônia em direção a Floresta Atlântica nordestina. Essa hipótese é ainda suportada por dados geológicos e de fósseis que sugerem que nesse período a América do Sul teve um grande domínio de florestas úmidas (Webb & Opdyke, 1995; Webb & Rancy, 1996; Ortiz-Jaureguizar & Cladera, 2006).

Rotas de conexão pleistocênica entre a Amazônia e a Floresta Atlântica nordestina já foram propostas (Willis, 1992; Oliveira *et al.*, 1999; Batalha-Filho *et al.*, 2013), com destaque para uma rota (A) adjacente ao litoral norte e outra (B) pelo interior do nordeste, suportada por dados palinológicos na região do médio rio São Francisco e por dados botânicos na Chapada Diamantina. Nossos resultados apontam evidências que suportam a hipótese de conexão pela rota B, mas refuta a hipótese da rota A. Evidências de estudos com táxons associados à floresta seca suportam que as últimas flutuações climáticas, durante o Pleistoceno e Holoceno, não foram capazes de alterar a estabilidade climática para ocorrência de floresta seca na porção norte do nordeste brasileiro (Werneck *et al.*, 2011, 2012). Portanto, a estabilidade desse tipo de ecossistema não permitiria a ocorrência de *Chiroxiphia pareola*, o que suporta a impossibilidade de rota de conexão entre as populações amazônicas e atlânticas por essa região, bem como justifica a não ocorrência atual da espécie em remanescentes de floresta úmida isolados localizados no centro norte do Ceará. Dessa forma, de acordo com nossos resultados (modelagens climáticas e análise molecular), evidências paleopalinológicas

(Oliveira *et al.*, 1999) e de espeleotemas (Auler *et al.*, 2009) e a ocorrência relictual da espécie *N. geoffroyi* (Roos *et al.*, 2012), sugerimos que a conexão Pleistocênica entre as Florestas Amazônica e Atlântica ocorreu no Pleistoceno médio, por rotas de conexão em regiões atualmente situadas próximas ao rio São Francisco e à Chapada Diamantina (Fig. 7).

Com uma proposta similar à do nosso estudo, Castro-Astor (2014) tentou recuperar evidências dessas conexões com paleodistribuição potencial de outras duas espécies de Pipridae que possuem distribuição disjunta, *Pipra rubrocapilla* e *Dixiphia pipra*. A única conexão possível revelada pelos seus resultados foi pela região sudeste do Brasil, uma das rotas que nós descartamos em nossos resultados. Uma hipótese associada a não recuperação de uma conexão pela região nordeste por Castro-Astor (2014), semelhante aos nossos resultados, pode estar relacionada à sensibilidade e uso de habitat e, conseqüente distribuição atual, das espécies envolvidas. Embora *P. rubrocapilla* e *D. pipra* também sejam táxons associados a florestas úmidas, possuem atualmente uma distribuição mais restrita que *C. pareola*. Por exemplo, não há registro das duas espécies nos remanescentes florestais do leste da Chapada Diamantina, nem do norte da Serra de Ibiapaba, no Ceará, e conseqüentemente, variáveis climáticas e de distribuição dessas localidades não foram agregadas nos testes de paleomodelagem de distribuição dessas espécies. No entanto, podemos propor que a história de conexão de *P. rubrocapilla* e *D. pipra* foi similar à de *C. pareola*, pois a divergência molecular das populações amazônicas e atlânticas das duas espécies foi similar a dos nossos resultados, por volta de 0,5 Mya (Castro-Astor, 2014).

A população com distribuição na Floresta Atlântica parece não ter sido fortemente influenciada pelas últimas máximas flutuações climáticas (LIG – 130kyr BP, LGM – 25kyr BP; Holocene – 6kyr BP), pois não foi evidenciada expansão ou retração populacional relacionada entre esses períodos, nem alterações expressivas no habitat climaticamente adequado. Desse modo, nossos resultados suportam a proposta de estabilidade climática nas regiões denominadas refúgios Bahia e Pernambuco da Floresta Atlântica (Carnaval & Moritz, 2008; Carnaval *et al.*, 2009). No entanto, não encontramos estrutura genética entre as populações dos dois refúgios e, portanto não suportamos a hipótese do rio São Francisco como barreira biogeográfica que direcionou diversificação na região (Silva *et al.* 2004, Santos *et al.* 2007; Carnaval & Moritz, 2008; Carnaval *et al.*, 2009; Silva *et al.*, 2012). Diferente dos nossos resultados de diversificação na Amazônia que foram associados à dinâmica histórica da drenagem dos rios, a evolução da drenagem do rio São Francisco é bastante antiga (Protejo-

Paleozoico) e foi modelada por eventos tectônicos ressurgentes até os 3,0 – 2,5 Mya, estágios que condicionaram grande parte do sistema de drenagem atual (Trompette *et al.*, 1992; Campos & Dardenne, 1997; Uhlein *et al.*, 2011). Portanto a colonização da população de *C. pareola* na Floresta Atlântica, oriunda das conexões com a Amazônia durante o Pleistoceno Médio, teria ocorrido muito após o estabelecimento do sistema de drenagem do rio São Francisco. Consequentemente, a hipótese dos rios como mecanismo que suportou eventos de diversificação na Amazônia, não é suportada com nossos resultados nessa região da Floresta Atlântica nordestina.

Sabemos que nenhuma hipótese única é capaz de explicar a grande maioria dos padrões de biodiversidade em florestas úmidas neotropicais (ver Bush, 1994; Haffer, 1997; Dantas *et al.* 2011), no entanto, nossos resultados, adicionados às outras evidências discutidas, suportam e refinam hipóteses de diversificação associadas ao papel dos rios nos processos de diversificação amazônica, bem como a conexões florestais entre a Amazônia e a Floresta Atlântica nordestina durante o Pleistoceno Médio. Porém, esses resultados não suportam uma influência direta das últimas máximas flutuações climáticas do Quaternário, nesses processos de diversificação, nem da dinâmica histórica dos rios na Floresta Atlântica nordestina.

Implicações taxonômicas

Nossas análises filogenéticas (Fig. 3 e 4) mostram claramente a estruturação de quatro grupos bem suportados geneticamente na espécie politípica *C. pareola*, esses grupos também foram estruturados por redes de haplótipos (Fig. 4c) e correspondem a três das quatro subespécies descritas.

As subespécies amazônicas, *C. p. napensis* e *C. p. regina* apresentam um padrão de divergência morfológica entre elas (Haffer, 1987), *napensis* é menor quando comparada as outras subespécies, possui coroa e píleo vermelho mais brilhante e o azul do dorso mais escuro, enquanto *regina* possui coroa e píleo amarelo ouro ao invés de vermelho (Neve, 2016). Além desses fatores, nossas análises mostraram divergências nucleotídicas entre essas duas populações bem como uma divergência datada a cerca de 1,8 Mya. Resultado semelhante foi encontrado por Agne (2012) em *C. linearis* e *C. lanceolata*, já consideradas espécies plenas. Dessa forma, seguindo o Conceito Filético Geral de Espécies, quando uma espécie é considerada uma população diagnosticável em relação à outra e independente evolutivamente

(monofilética) (Queiroz, 1998; Aleixo, 2007), sugerimos o reconhecimento de *C. napensis* e *C. regina* como espécies plenas.

De acordo com os nossos resultados, *C. p. pareola* não corresponde um grupo monofilético, pois abriga uma linhagem com as populações de *C. p. pareola* do escudo das Guianas e *C. p. atlantica* e outra linhagem, separada a cerca de dois milhões de anos atrás da anterior, com as populações de *C.p. pareola* do sudeste amazônico e da Floresta Atlântica. Semelhante ao que encontramos, Miller (1908) e Agne (2012), não apoiam o reconhecimento de *C. p. atlantica*, uma vez que alegam que este táxon não apresentou independência evolutiva em relação a *C. p. pareola*. Snow (1971) relata que *C. p. atlantica* é maior que *C. pareola* nominal, mas muito semelhante, não somente na plumagem, mas também nas vocalizações e no display. A localidade tipo de *C. pareola* é Cayenne, na Guiana Francesa (Linnaeus, 1766), consequentemente, o espécime tipo foi proveniente de uma população do Escudo das Guianas. Portanto, recomendamos que o nome da espécie *C. pareola* seja reconhecido como espécie plena apenas para as populações que ocorrem no escudo das Guianas e em Tobago (clado representado na cor azul em nossas análises, ver Fig. 3 e 4).

A linhagem monofilética do sudeste amazônico e da Floresta Atlântica não apresenta outro nome citado na literatura, no entanto, recomendamos que seja reconhecida com espécie plena, pois divergiu da linhagem irmã por volta de 2,0 Mya e apresenta uma porcentagem de divergência genética semelhante a divergência entre *C. regina* e *C. napensis*. Sugerimos uma nova espécie para representar essa linhagem, que pode ser considerada uma espécie críptica pela similaridade morfológica com a espécie irmã. Nossos dados sugerem que as populações dessa linhagem fazem parte de uma conexão de floresta úmida da Amazônia em direção a atual Floresta Atlântica nordestina.

Como o conjunto de evidências que suporta a história de diversificação da nova espécie foi baseado nas análises moleculares e de modelagem de nicho, designamos como série tipo desse táxon espécimes depositados na Coleção de Aves Heretiano Zenaide da Universidade Federal da Paraíba, cujos materiais foram usados nas análises (Tab. 5).

Tombo	Espécie	Sexo	Localidade	Cidade	Estado	País	Data de Coleta	Coletor
Holótipo								
CAHZ01267	<i>New taxon</i>	Macho	RPPN Pacatuba	Sapé	PB	Brasil	17/11/2013	Araujo <i>et al.</i>
Parátipos								
CAHZ01161	<i>New taxon</i>	Macho	Sede do Parque Nacional de Ubajara	Ubajara	CE	Brasil	13/05/2013	Araujo <i>et al.</i>
CAHZ01173	<i>New taxon</i>	Fêmea	Sede do Parque Nacional de Ubajara	Ubajara	CE	Brasil	14/05/2013	Araujo <i>et al.</i>
CAHZ00475	<i>New taxon</i>	Fêmea	Barra azul	Bonito	PE	Brasil	10/11/2012	Mariano <i>et al.</i>
CAHZ00030	<i>New taxon</i>	Macho	Mata do Pau Ferro	Areia	PB	Brasil	15/01/2011	Araujo <i>et al.</i>
CAHZ01434	<i>New taxon</i>	Fêmea	Mata do Estado	São Vicente Férrer	PE	Brasil	20/10/2015	Araujo <i>et al.</i>
CAHZ01459	<i>New taxon</i>	Macho	Cachoeira do Itatu	Jacobina	BA	Brasil	19/01/2015	Araujo <i>et al.</i>

Tabela 5. Informações dos espécimes da série tipo da nova espécie, holótipo e parátipos depositados na Coleção de Aves Heretiano Zenaide da Universidade Federal da Paraíba.

Embora nossos resultados suportem o reconhecimento de uma história evolutivamente independente da nova espécie, consequentemente, do seu reconhecimento como espécie, recomendamos fortemente a realização de estudos taxonômicos com observação detalhada de vários traços fenotípicos, incluindo, por exemplo, vocalizações e comportamento, visto que esses traços podem ser observados no desvio do sucesso reprodutivo entre machos em vários membros da família Pipridae (Anciães *et al.*, 2009) e o repertório comportamental de corte pode conter informações filogenéticas utilizadas para distinguir espécies da família (Prum, 1990, 1994; Anciães *et al.*, 2009).

CONCLUSÕES

O presente estudo suportou o reconhecimento de quatro maiores linhagens evolutivamente independentes, correspondentes a quatro táxons, na espécie política *C. pareola*, os quais sugerimos que sejam espécies plenas: 1) *C. regina*, *C. napensis* *C. pareola* e a nova espécie. As quatro espécies possuem distribuição na Amazônia e a última ocorre também na Floresta Atlântica. *C. regina* é grupo irmão de *C. napensis* e *C. pareola* da nova espécie, porém, na Amazônia, as estimativas de todos os splits ocorreram no Plio-Pleistoceno e foram suportados por evidências da história da dinâmica dos rios e não das últimas máximas flutuações climáticas do Quaternário. Nossos resultados também mostram que a divergência molecular entre as populações amazônicas e atlânticas da nova espécie é muito baixa quando comparada com a divergência entre a linhagens separadas pelos rios amazônicos. Ainda, os dados de expansão populacional sugerem que a conexão entre essas populações da nova espécie ocorreu no Pleistoceno Médio, período em que há várias evidências paleontológicas de táxons florestais amplamente distribuídos na América do Sul. A região entre o médio rio São Francisco e a Chapada Diamantina foi sugerida como rota de conexão entre as populações amazônicas e atlânticas, com base na distribuição atual, paleodistribuição potencial e evidências de outros estudos.

REFERÊNCIAS

- Ab'saber, A.N., 1977. Os domínios morfoclimáticos na América do Sul: primeira aproximação. *Geomorfologia*, v.53, p.1-23.
- Agne, C. E., 2012. Filogenia molecular de Chiroxiphia e Antilophia (aves: pipridae). Dissertação de mestrado, Programa de Pós-graduação em Zoologia, Porto Alegre-RS, 26p.
- Aleixo, A., 2004. Historical diversification of a Terra-firme forest Bird superspecies: a phylogeographic perspective on the role of diferente hypotheses of Amazonian diversification. *Evolution*, 58: 1303-1317.
- Aleixo, A. & Rossetti, F. D., 2007. Avian gene trees, landscape evolution, and geology: towards a modern synthesis of Amazonian historical biogeography? *J. Ornithol.* 148, 443–453.
- Andrade-lima, D., 1982. Present day forest refuges in Northeastern Brazil. Pp. 245-254, In: Prance, G.T. (ed.). *Biological Diversification in the Tropics*. Columbia University Press, New York.
- Anciães, M., Durães, R. R., Cerqueira, M. C., Fortuna, J. R., Sohn, N., Cohn-Haft, M. & Farias, P., 2009. Diversidade de piprídeos (Aves: Pipridae) amazônicos: seleção sexual, ecologia e evolução. *Oecol. Bras.* 13: 165-182.
- Araújo, C. B., Marcondes-Machado, L. O. & Costa, G. C., 2014. The importance of biotic interactions in species distribution models: a test of the Eltonian noise hypothesis using parrots. *Journal of Biogeography* (Print), v. 41, 513-523p.
- Auler, D., Dalmolin, A. M. T. & Fenalti, V., 2009. Abordagem temática: natureza dos temas em Freire e no enfoque CTS. In: *Alexandria (UFSC)*, v. 2 n1, p. 67-84, 2009.
- Ayres, J. M. & Clutton-Brock, T. H., 1992. River boundaries and species range in Amazonian primates. *Am. Nat.* 140(3):531-537.
- Bandelt, H. J., Forster, P. & Röhl, A., 1999. Median-joining networks for inferring intraspecific phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 16: 37–48.
- Barker, F. K., Cibois, A., Schikler, P., Feinstein, J. & Cracraft, J., 2004. Phylogeny and diversification of the largest avian radiation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 101, 11040-11045.

- Batalha-Filho, H., Fjeldsa, J., Fabre, P. H. & Miyaki, C. Y., 2013. Connections Between The Atlantic And The Amazonian Forest Avifaunas Represent Distinct Historical Events. *J Ornithol* 154:41–50.
- Batalha-Filho, H., Pessoa, R. O., Fabre, P. H., Fjelds , J., Irestedt, M., Ericson, P. G. P., Silveira, L. F., & Miyaki, C. Y., 2014. Phylogeny and historical biogeography of gnateaters (Passeriformes, Conopophagidae) in the South America forests. *Mol. Phylogenet. Evol.* 79, 422–432.
- Bates, J. M., Hackett, S. J. & Cracraft, J., 1998. Area-relationships in the Neotropical lowlands: an hypothesis based on raw distributions of Passerine birds. *J. Biogeogr.*, 25, 783–793.
- Berv, J. S. & Prum, R. O., 2014. A comprehensive multilocus phylogeny of the Neotropical cotingas (Cotingidae, Aves) with a comparative evolutionary analysis of breeding system and plumage dimorphism and a revised phylogenetic classification. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 81, 120–136.
- Brown, K.S. & Ab'saber, A. N., 1979. Ice-age refuges and evolution in the Neotropics: correlation of paleoclimatological, geomorphological and pedological data with modern biological endemism. *Paleoclimas* 5:130.
- Brumfield, R.T., 2012. Inferring the origins of lowland Neotropical birds. *Auk* 129, 367–376.
- Bush M., 1994. Amazonian speciation: a necessarily complex model. *Journal of Biogeography* 21:5–17.
- Cabanne, G. S., D'Horta, F. M., Sari, E. H. R., Santos, F. R. & Miyaki, C.Y., 2008. Nuclear and mitochondrial phylogeography of the Atlantic forest endemic *Xiphorhynchus fuscus* (Aves: Dendrocolaptidae): biogeography and systematics implications. *Mol. Phylogenet. Evol.* 49, 760–773.
- Cadena, C. D., Klicka, J. & Ricklefs, R. E., 2007. Evolutionary differentiation in the Neotropical montane region: molecular phylogenetics and phylogeography of Buarremon brushfinches (Aves, Emberizidae). *Mol. Phylogent. Evol.* 44, 993–1016.
- Campbell Jr, K. E., Frailey, C. D. & Pittman, R. L., 2006. The Pan-Amazonian Ucayali Peneplain, late Neogene sedimentation in Amazonia, and the birth of the modern Amazon River system. *Paleogeogr. Palaeoclimatol. Palaeoecol.* 239: 166-219.

- Campos, G. J. E. & Dardenne, M. A, 1997. Origem e evolução tectônica da Bacia Sanfranciscana. *Revista Brasileira de Geociências*, 27(3):283-294.
- Carnaval, A. C. & Moritz, C. 2008. Historical climate modelling predicts patterns of current biodiversity in the Brazilian Atlantic Forest. *Journal of Biogeography*, 35, 1187-1201.
- Carnaval, A. C., Hickerson, M., Haddad, C., Rodrigues, M. & Moritz, C., 2009. Stability predicts genetic diversity in the Brazilian Atlantic forest hotspot. *Science*, 323,785–789.
- Carvalho, C. S., 2013. Relações Biogeográficas Entre Comunidades De Aves Suportam Diferentes Histórias Na Mata Atlântica. Dissertação de Mestrado-PPGCB.
- Castro-Astor, I. N., 2014. Phylogeographic Study of two Neotropical bird species, the Red-headed Manakin (*Pipra rubrocapilla*) and White-crowned Manakin (*Dixiphia pipra*). Tese de Doutorado, The City College of New York, 160 Convent Ave, New York, NY 10031.
- Cerqueira, P. V., Santos, M. P. D. & Aleixo, A., 2016. Phylogeography, inter-specific limits and diversification of *Turdus ignobilis* (Aves: Turdidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*.
- Costa, L. P., 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic forests of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. *J. Biogeogr.* 30: 71–86.
- Cracraft, J., Prum, R.O., 1988. Patterns and processes of diversification: speciation and historical congruence in some Neotropical birds. *Evolution*, 603–620.
- Dantas, G. P. M.; Cabanne, G. S. & Santos, F. S., 2011. How Past Vicariant Events Can Explain the Atlantic rainforest Biodiversity? *Ecosystems Biodiversity*, PhD. Oscar Grillo (Ed.), ISBN: 978-953-307-417-7, InTech, Available from: <http://www.intechopen.com/books/ecosystems-biodiversity/how-past-vicariant-events-can-explain-the-atlantic-forest-biodiversity>.
- D’Horta, F., Cabanne, G. S., Meyer, D. & Miyaki, C. Y., 2011. The genetic effects of Late Quaternary climatic changes over a tropical latitudinal gradient: diversification of an Atlantic Forest passerine. *Mol Ecol* 20: 1932–1935.
- Drummond, A. J. & Rambaut, A., 2007. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol. Biol.* 7: 214.

- Elith, J., Phillips, S. J., Hastie, T., Dudík, M., Chee, Y. E. & Yates, C. J., 2011. A statistical explanation of MaxEnt for ecologists. *Diversity and Distributions*, 17:43-57.
- Excoffier, L. G. L. & Schneider, S., 2005. Arlequin ver. 3.0: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online* 1:47-50.
- Friesen V. L., Congdon, B. C., Walsh, H. E. & Birt, T. P., 1997. Intron variation in marbled murrelets detected using analyses of single-stranded conformational polymorphisms. *Mol. Ecol.* 6: 1047–1058.
- Fu, Y. X., 1997. Statistical tests of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection. *Genetics* 147(2):915–925.
- Groth, J. & Barrowclough, G. F., 1999. Basal divergences in birds and the phylogenetic utility of the nuclear RAG-1 gene. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 12, 115-123.
- Haffer, J., 1969. Speciation in Amazonian forest birds. *Science*, 165, p. 131-37.
- Haffer, J., 1987. Biogeography of Neotropical birds. In: Whitmore, T.C. and Prance, G.T. (Eds.), *Biogeography and Quaternary History of Tropical America*. Clarendon Press, Oxford, pp. 105-150.
- Haffer, J., 1997. Alternative models of vertebrate speciation in Amazonia: an overview. *Biodiversity and Conservation* 6:451-476.
- Hasegawa, M., Kishino, H. & Yano, T., 1985. Dating of the human-ape splitting by a molecular clock of mitochondrial DNA. *J. Mol. Evol.* 22: 160–174.
- Heled, J. & Drummond, A. J., 2008. Bayesian inference of population size history from multiple loci. *BMC Evol. Biol.* 8: 289.
- Higgins, D., Thompson, J., Gibson, T., Thompson, J. D., Higgins, D. G. & Gibson, T. J., 1994. CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.* 22: 4673–4680.
- Hijmans, R. J., Cameron, S. E., Parra, J. L., Jones, P. G. & Jarvis, A., 2005. Very high resolution interpolated climate surfaces for global land areas. *International Journal of Climatology* 25: 1965-1978.

Ho, S. Y. W. & Shapiro, B., 2011. Skyline-plot methods for estimating demographic history from nucleotide sequences. *Molecular Ecology Resources*, 12p.

Hoorn, C., Wesselingh, F. P., Steege, H., Bermudez, M. A., Mora, A., Sevink, J., San-martín, I., Sanchez-Meseguer, A., Anderson, L., Figueiredo, J. P., Jaramillo, C., Riff, D., Negri, F. R., Hooghiemstra, H., Lundberg, J., Stadler, T., Sarkinen, T. & Antonelli, A., 2010. Amazonia Through Time: Andean Uplift, Climate Change, Landscape Evolution, and Biodiversity. *Science* 330:927-931.

Huang, W., Yun-Xin, F., Chang, B. H. J., Gu, X., Jorde, L. B. & Li, W. H., 1998. Sequence variation in ZFX introns in human populations. *Molecular Biology and Evolution*. In: Dantas, G. P. M., 2013. Introdução a filogeografia aplicada à conservação biológica de vertebrados neotrópicos. 1.ed., Curitiba, ed. CRV, 194p.

Huelsenbeck, J. P. & Ronquist, F., 2001. MrBayes: Bayesian inference of phylogenetic tree. *Bioinformatics* 17, 754–755.

Hughes, C. E., Pennington, R. T. & Antonelli, A., 2013. Neotropical plant evolution: assembling the big picture. *Bot. J. Linn. Soc.* 171, 1–18. doi:10.1111/boj.12006.

Ivanova, N. V., Zemlak, T. S., Hanner, R. H. & Hebert, P. D. N., 2007. Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Mol. Ecol. Notes*. 7, 544-548.

Kirwan, G. M. & Green, G., 2011. Cotingas and manakins. Christopher Helm, London, UK. 624 p.

Latrubesse, E. M., Cozzuol, M., Silva-Caminha, S. A. F., Rigsby C. A., Absy, M. L. & Jaramillo, C., 2010. The Late Miocene paleogeography of the Amazon Basin and the evolution of the Amazon River system. *Earth-Science Reviews* 99 (2010) 99–124.

Librado, P. & Rozas, J., 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data. *Bioinformatics* 25:1451–1452.

Linnaeus, 1766. *Systema naturae, per regna tria naturae: secundum classes, ordines, genera, species cum characteribus, differentiis, synonymis, locis, Aves Passeres, Pipra*. Vindobonae, [Vienna]: Typis Ioannis Thomae, 339p. Em: <http://www.biodiversitylibrary.org/item/10325#page/2/mode/1up>

- Lovette, I. J., 2004. Mitochondrial dating and mixed support for the “2% rule” in birds. *Auk* 121, 1–6.
- Maiano, E. F., 2014. Relações biogeográficas entre a avifauna de Florestas de Altitude no Nordeste do Brasil. Tese de doutorado, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas, Departamento de Sistemática e Ecologia, Universidade Federal da Paraíba, 214p.
- Maldonado-Coelho, M., 2012. Climatic oscillations shape the phylogeographical structure of Atlantic Forest fire-eye antbirds (Aves: *Thamnophilidae*). *Biological Journal of the Linnean Society*, 105, 900–924.
- Merow, C., Smith, M. J. & Silander-Jr, J. A., 2013. A practical guide to MaxEnt for modeling species’ distributions: what it does, and why inputs and settings matter. *Ecography* 36: 1058–1069.
- Messing, J., 1983. New M13 vectors for cloning. *Methods in Enzymology*. 101, 20-78.
- Miller, W. D., 1908. A review of the manakins of the genus *Chiroxiphia*. *Bulletin American Museum of Natural History*. 24, 331-343.
- Nei, M., 1987. *Molecular Evolutionary Genetics*. Columbia Univ. Press, New York.
- Neve, D., 2016. Azul-backed Some (*Chiroxiphia pareola*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D. A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of Birds of a Vivo Mundial*. Lynx Edicions, Barcelona. (recuperado de <http://www.hbw.com/node/57083> em 26 de Janeiro de 2016).
- Oliveira, P. E., Barreto, A. M. F & Suguio, K., 1999. Late Pleistocene/Holocene climatic and vegetational history of the Brazilian caatinga: the fossil dunes of the middle São Francisco River. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology*, 152, 319–337.
- Ortiz-Jaureguizar, E. & Cladrea, G. A., 2006. Paleoenvironmental evolution of southern South America during the Cenozoic *Journal of Arid Environments* 66, 498–532.
- Pennington, R. T., Lewis, G. P. & Ratter, J. A., 2006. An overview of the plant diversity, biogeography and conservation of Neotropical Savannas and Seasonally Dry Forests. In: Pennington, R. T., Lewis, G. P. & Ratter, J. A. Ratter. *Neotropical Savannas and Seasonally Dry Forests: plant diversity, biogeography and conservation*. CRC Press Taylor & Francis Group, New York. p.1-29.

- Phillips, S. J., Anderson, R. P. & Schapire, R. E., 2004. A maximum entropy approach to species distribution modeling. In *Proceedings of the Twenty-First International Conference on Machine Learning*, pages 655-662.
- Phillips, S. J., Anderson, R. P. & Schapire, R. E., 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190:231-259.
- Primmer, C. R., Borge, T., Lindell, J. & Saetre, G. P., 2002. Single nucleotide polymorphism characterization in species with limited available sequence information: high nucleotide diversity revealed in avian genome. *Mol. Ecol.* 11: 603–612.
- Prum, R. O., 1990. Phylogenetic analysis of the evolution of display behavior in the Neotropical manakins (Aves: Pipridae). *Ethology* 84:202–231.
- Prum, R. O., 1994. Phylogenetic analysis of the evolution of alternative social behavior in the manakins (Aves: Pipridae). *Evolution*. 48, 1657-1675.
- Pybus, O. G., Rambaut, A. & Harvey, P. H., 2000. An integrated framework for the inference of viral population history from reconstructed genealogies. *Genetics*, v. 155, p. 1.429-1.437.
- Queiroz, K., 1998. The general lineage concept of species, species criteria, and the process of speciation: a conceptual unification and terminological recommendations, p. 57- 75. In: D. J. Howard e S. H. Berlocher (eds.) *Endless forms: species and speciation*. Oxford: Oxford University Press.
- Ramos-Onsins, S. & Rozas, J., 2002. Statistical properties of new neutrality test against population growth. *Molecular Biology and Evolution* 19:2092–2100.
- Ribas, C. C., Maldonado-Coelho, M., Smith, B. T., Cabanne, G. S., d’Horta, F. M. & Naka, L. N., 2012a. Towards an integrated historical biogeography of the Neotropical Lowland Avifauna: combining Diversification analysis and Landscape Evolution. *Ornitologia Neotropical*, 23: 187–206.
- Ribas, C. C., Aleixo, A., Nogueira, A. C. R., Miyaki, C. Y. & Cracraft, J., 2012b. A palaeobiogeographic model for biotic diversification within Amazonia over the past three million years. *Proceedings of the royal Society b-biological sciences*, London, v. 279, n. 1729.

Ridgely, R. S. & Tudor, G., 1994. The birds of South America. Vol. 2. Univ. Texas Press, Austin. 813 p.

Rocha, T. C., Sequeira, F., Aleixo, A., Rêgo, P. S., Sampaio, I., Schneider, H. & Vallinoto, M., 2015. Molecular phylogeny and diversification of a widespread Neotropical rainforest bird group: The Buff-throated Woodcreeper complex, *Xiphorhynchus guttatus/susurrans* (Aves: Dendrocolaptidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 85 131–140.

Roos, A. L., Souza, E. A., Campos, C. B., Paula, R. C. & Morato, R. G., 2012. Primeiro registro documentado do Jacu-estalo *Neomorphus geoffroyi* Temminck, 1820 para o bioma Caatinga. *Revista Brasileira de Ornitologia*, 20(1), 81- 85.

Rossetti, D. F., Toledo, P. M. & Góes, A. M., 2005. New geological for Western Amazônia (Brazil) and implications for biogeography and evolution. *Quat Res* 63:78-8.

Santos, A. M. M., Cavalcanti, D. R., Silva, J. M. C. D. & Tabarelli, M., 2007. Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. *J. Biogeogr.* 34, 437–446.

Santos, F. A., Pincerati, M., Santos, R. F. & Dantas, G. P. M., 2013. Métodos Fiologeográficos: vantagens e limitações. 1.ed., Cap. 2, Curitiba, ed. CRV, 29-55p.

Sick, H., 1997. *Ornitologia Brasileira*. Rio de Janeiro: Nova Fronteira, 912p.

Silva JM, Sousa MC, Castelletti C. 2004. Areas of endemism for passerine birds in the Brazilian Atlantic forest, South America. *Global Ecology and Biogeography* 13: 85–92.

Silva, S. F., Moraes-Barros, N., Ribas, C. C., Ferrand, N. & Morgante, J. S., 2012. Divide to conquer: a complex pattern of biodiversity depicted by vertebrate components in the Brazilian Atlantic Forest. *Biological Journal of the Linnean Society*, 107, 39-55.

Silveira, R. R. & Nogueira, A. C. R., 2011. Upper Cenozoic palinostratigraphy of the Eastern Solimões basin, Central Amazonia: evidence for uplifted Purus Are during late Neogene. *Palaeogeography, Palaeoecology*, in press.

Smith, B. T. & Klicka, J., 2010. The profound influence of the late Pliocene Panamanian uplift on the exchange, diversification, and distribution of New World birds. *Ecography* 33:333–342.

Snow, D. W., 1971. Social organization of the Blue-backed Manakin. *Wilson Bull.* 83, 35-38.

- Snow, D. W., 1985. Affinities and recent history of the avifauna of Trinidad and Tobago. *Orn. Monogr.* 36, 238-246.
- Snow, D., 2004. Blue-backed Manakin (*Chiroxiphia pareola*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.) (2014). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. (retrieved from <http://www.hbw.com/node/57083> on 7 July 2015).
- Snow, D., 2016. Blue-backed Manakin (*Chiroxiphia pareola*). In: del Hoyo, J., Elliott, A., Sargatal, J., Christie, D.A. & de Juana, E. (eds.). *Handbook of the Birds of the World Alive*. Lynx Edicions, Barcelona. (retrieved from <http://www.hbw.com/node/57083> on 21 January 2016).
- Sorenson, M. D., Ast, J. C., Dimcheff, D. E., Yuri, T. & Mindell, D. P., 1999. Primers for a PCR-Based Approach to Mitochondrial Genome Sequencing in Birds and Other Vertebrates. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 12, 105-114.
- Sorenson, M. D., 2003. Avian mtDNA primers. Boston University, 7p.
- Sousa-Neves, T., Aleixo, A. & Sequeira, F., 2013. Cryptic patterns of diversification of a widespread Amazonian Woodcreeper species complex (Aves: dendrocolaptidae) inferred from multilocus phylogenetic analysis: implications for historical biogeography and taxonomy. *Mol. Phylogenet. Evol.* 68, 410–424.
- Stephens, M., Smith, N. & Donnelly, P., 2001. A new statistical method for haplotype reconstruction from population data. *Am. J. Hum. Genet.* 68, 978–989.
- Tamura, K., Peterson, D., Peterson, N., Stecher, G., Nei, M. & Kumar, S., 2011. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Maximum Likelihood, Evolutionary Distance, and Maximum Parsimony Methods. *Mol. Biol. Evol.* 28: 2731–2739.
- Tajima, F., 1989. The effect of change in population size on DNA polymorphism. *Genetics* 123: 597–601.
- Tello, J.G., Moyle, R. G., Marchese, D. J. & Cracraft, J., 2009. Phylogeny and phylogenetic classification of the tyrant flycatchers, cotingas, manakin and their allies (Aves Tyrannides). *Cladistics* 25, 1-39.

Terribile, L. C., Diniz-Filho, J. A. F. & De Marco Jr., P., 2010. How many studies are necessary to compare niche-based models for geographic distributions? Inductive reasoning may fail at the end. *Braz. J. Biol.*, vol. 70, no. 2, p. 263-269.

Teixeira, D. M., 1992. As fontes do paraíso: um ensaio sobre a Ornitologia no Brasil holandês (1624 - 1654). *Revista Nordestina de Biologia* 7 :1/2: 1 – 149.

Thom, G. & Aleixo, A., 2015. Cryptic speciation in the white-shouldered antshrike (*Thamnophilus aethiops*, Aves – *Thamnophilidae*): The tale of a transcontinental radiation across rivers in lowland Amazonia and the northeastern Atlantic Forest. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, n 82, 95–110 p.

Traylor Jr, M. A. & Fitzpatrick, J. W., 1982. A survey of tyrant flycatchers. *The livingbirds*.19:7-50.

Trompette, R. R., Uhlein, A., Silva, M. E. & Karmann, I., 1992. O Cráton Brasileiro do São Francisco - Uma Revisão. *Revista Brasileira de Geociências*, 22(4):481-486.

Uhlein, A., Caxito, F. A., Sanglard, J. C. D., Uhlein, G. J. & Suckau, G. L., 2011. Estratigrafia e tectônica das faixas neoproterozóicas da porção norte do Craton do São Francisco. *Geonomos*, 19(2), 8-31.

Vanzolini, P. H. & Williams, H. H., 1970. South American anoles: the geographic differentiation and evolution of the *Anolis chrysolepis* species group (Sauria, Iguanidae). *Arq. Zool. São Paulo* 19(1-4): 1-298.

Wallace, A. R., 1952. On the monkeys of the Amazon. *Proceedings Zoologist Society London*, 20: 107-110, 1852.

Wang, X., Auler, A. S., Edwards, R. L., Cheng, H., Cristalli, S. P., Smart, P. L., Richards, D. A. & Shen, C. C., 2004. Wet periods in northeastern Brazil over the past 210 kyr linked to distant climate anomalies. *Nature PublishingGroup*, Vol. 432.

Webb, S. D. & Opdyke, N. D., 1995. Global climatic influences on Cenozoic land mammal faunas. In: Stanley, S.M.,et al. (Eds.), *Effects of Past Global Change on Life*. National Academies Press, Washington, DC, pp. 184–208.

- Webb, S. D. & Rancy, A., 1996. Late Cenozoic evolution of the Neotropical mammal fauna. In: Jackson, J.B.C., Budd, A.F., Coates, A.G. (Eds.), *Evolution and Environments in Tropical Americas*. The University of Chicago Press, Chicago, pp. 335–358.
- Weir, J. T. & Schluter, D., 2008. Calibrating the avian molecular clock. *Mol. Ecol.* 17, 2321–2328.
- Werneck, F., 2011. The diversification of eastern South American open vegetation biomes: Historical biogeography and perspectives. *Quaternary Science Reviews* xxx 1-19.
- Werneck, F. P., Gamble, T., Colli, G. R., Rodrigues, M. T. & Sites Jr, J. W., 2012. Deep Diversification and Long-Term Persistence in The South American ‘Dry Diagonal’: Integrating Continent-Wide Phylogeography and Distribution Modeling of Geckos. *Evolution*. Doi: 10.1111/j.1558-5646.2012.01682.x.
- Whitmore, T. C. & Prance, G. T., 1987. *Biogeography and Quaternary History in Tropical America*. Oxford: Clarendon Press.
- Willis, E. O., 1992. Zoogeographical origins of eastern brazilian birds. *Ornitologia Neotropical* 3: 1-15.
- Young, N., Carter, L. & Evangelista, P., 2011. *A MaxEnt Model v3.3.3e Tutorial (ArcGIS v10)*. Colorado State University, 30p.

ANEXOS

Anexo 1. Pontos de ocorrência de *Chiroxiphia pareola* utilizados para realizar o modelo de distribuição de nicho com o algoritmo Maxent.

Fonte	Localidade	Estado	Latitude	Longitude
MPEG	Tefé, Igarapé Lontra	Amazonas	-3,325226	-64,71624
MPEG	Manicoré, Rodovia do Estanho	Amazonas	-8,033391	-61,868911
MPEG	Rio Ouro Preto, Guajará-Mirim	Rondônia	-10,891173	-65,024053
MPEG	Município de Humaitá, Aldeia Pupunha	Amazonas	-7,526377	-63,016014
MPEG	Município de Santa Bárbara	Pará	-1,227809	-48,307618
MPEG	Parque Estadual Monte Alegre	Pará	-2,053994	-54,173577
MPEG	Maraã, Lago Cumapi	Amazonas	-1,684304	-65,832807
MPEG	São João dos Patos	Maranhão	-6,454242	-43,693816
MPEG	FLONA Amaná, Igarapé Montanha	Pará	-4,834245	-56,978655
MPEG	Ilha Bela Vista, rio Xingú	Pará	-2,795997	-52,020077
MPEG	Parauapebas, Flona de Carajás	Pará	-6,251389	-50,54759
MPEG	São Roberto, Povoado Canaã	Maranhão	-5,013269	-45,015052
MPEG	Ilhéus, Ecoparque de UNA	Bahia	-14,780175	-39,082491
MPEG	Estirão do Equador, Atalaia do Norte	Amazonas	-4,543056	-71,63242
MPEG	Barcarena	Pará	-1,579823	-48,59883
MPEG	Guarantã do Norte, Fazenda São Jorge	Mato Grosso	-9,499018	-55,234059
MPEG	Fazenda Sapucaia	Tocantins	-11,996175	-48,979026
MPEG	Araguaína, Mata do Garimpinho	Tocantins	-7,186245	-48,148399

MPEG	José de Freitas	Piauí	-4,793571	-42,608693
MPEG	Novo Airão, Igarapé-Açu	Amazonas	-2,871444	-67,7828
MPEG	RDS Cujubim	Amazonas	-0,288318	-67,472583
MPEG	Coari, Rio Urucu	Amazonas	-4,071942	-63,176364
MPEG	Jacareacanga	Pará	-7,300014	-57,403557
MPEG	Fazenda Tanguro	Mato Grosso	-12,813702	-52,407739
MPEG	Ibateguara, Usina Serra Grande	Alagoas	-9,656903	-35,738739
UEFS	Santa Teresinha	Bahia	-12,782326	-39,502286
UEFS	Ibirapitanga	Bahia	-14,071529	39,424881
MZUSP	Fazenda Encrenca, Amajari	Roraima	3,744876	-62,264463
MZUSP	Próximo a comunidade Vila Nova, Macapá	Amapá	0,195385	-50,860902
MZUSP	Rio Parauari	Amazonas	-3,814297	-57,494641
MZUSP	Rio Sucunduri	Amazonas	-8,251674	-58,959201
MZUSP	Prainha	Pará	-1,808232	-53,496129
MZUSP	Palmeiras do Tocantins, Matas Virgens	Tocantins	-6,612206	-47,641347
MZUSP	Rio Rooselvet	Mato Grosso	-10,698909	-60,48293
MZUSP	Capela	Sergipe	-10,45623	-37,007889
CAHZ	Mata Pau Ferro, Areia	Paraíba	-6,959984	-35,757227
CAHZ	Brejão, Bonito	Pernambuco	-9,018932	-36,555903
CAHZ	Brejo da Madre de Deus	Pernambuco	-8,19291	-36,405257
CAHZ	Cruz do Espírito Santo	Paraíba	-7,124433	-35,082156

CAHZ	Sede do Parque Nacional de Ubajara, Ubajara	Ceará	-3,736862	-40,902959
CAHZ	Paudalho, Aldeia	Pernambuco	-7,877269	-35,186377
CAHZ	São Vicente Ferrer, Mata do Estado	Pernambuco	-7,608643	-35,410454
MNRJ	Iramaia	Bahia	-13,284381	-41,158316
MNRJ	Presidente Kennedy	Tocantins	-8,583356	-48,427842
INPA	Boa Vista	Roraima	1,565674	-59,9911
FMNH	Tartarugalzinho	Amapá	1,63345	-51,29820
Unicamp	Salinópolis	Pará	-0,621205	-47,331998
FNJV	Camaçari	Bahia	-12,702095	-38,367787
FNJV	Quebrangulo, Fazenda Riachão	Alagoas	-9,247103	-36,426113
Xenocanto	Praia de Itacaré	Bahia	-14,315	-38995
Xenocanto	Bacia 199 Santarem	Pará	-2,8528	-54,7951
Xenocanto	Bacia 269 Paragominas	Pará	-3,209	-47,604
Xenocanto	Serra dos Carajás	Pará	-6,1603	-50,3459
Xenocanto	Amazon Manu Lodge	Peru	-12,3398	-70,7339
Xenocanto	Yuturi Lodge, Orellana	Equador	-0,5989	-76,0414
Xenocanto	Engenho Cachoeira Linda, Barreiros	Pernambuco	-8,8173	-35,4773
Xenocanto	Parque Nacional da Amazônia	Amazonas	-4,5167	-56,3001
Xenocanto	Reserva Extrativista Alto Juruá. Foz do Tejo	Mato Grosso	-8,9826	-72,7148
Xenocanto	Road to the Rio Cuyuni east of Tumeremo, Bolivar	Venezuela	6,9001	-61,2501
Xenocanto	Fazenda Country, Canavieiras,	Bahia	-15,4173	-38,9971

Xenocanto	Karanambo Lodge	Guyana	3,826	-59,315
Xenocanto	Bacia 103, Belterra	Pará	-2,672	-54,9289
Xenocanto	Mata de São João	Bahia	-12,537761	-38,337222
Xenocanto	Awala-Yalimapo, Coswine	French Guiana	5,7334	-53,9001
Xenocanto	La Carapa, Macouria	French Guiana	4,911	-52,46
Xenocanto	Huaorani reserve	Ecuador	-1,023307	-77,138532
Xenocanto	São Gabriel da Cachoeira	Amazonas	-0,1334	-67,0834
Xenocanto	Campos de Bragança	Pará	-1,0054	-46,8002
Xenocanto	Estancia Bello Horizonte, 20 km N Puerto Maldonado, Madre de Dios	Peru	-12,4775	-69,0881
Xenocanto	Fazenda Fuma Azul, Rio Araguaia, Ananás	Tocantins	-6,241	-48,418
Xenocanto	Estação Ecológica de Murici	Alagoas	-9,3001	-35,9334
Xenocanto	Yasuni NP at Parakeet Lick, Napo	Ecuador	-0,5332	-76,3528
Xenocanto	Mata do Crasto, Município de Santa Luzia do Itanh	Sergipe	-11,3834	-37,4001
Xenocanto	Lencois, Remanso Road	Bahia	-12,548	-41,362
Xenocanto	Sinnamary, Malmanoury river	French Guiana	5,317	-52,82
Xenocanto	Tupana lodge,	Amazonas	-4,067	-60,6598
Xenocanto	Fazenda Fausto's a oeste da Colonia, próximo a Uma	Bahia	-15	-39
Xenocanto	Serra dos Caiabis, Alta Floresta	Mato Grosso	-10,7501	-56,7501
Xenocanto	Serra da Ubatuba, Granja	Ceará	-3,3001	41,1501
Xenocanto	Floresta Estadual Rio Preto-Jacundá, Machadinho d'Oeste,	Rondônia	-8,9244	-62,0836
Xenocanto	Porto de Moz	Pará	-1,9456	-52,3265

Xenocanto	Itaituba	Pará	-5,6324	-57,1317
Xenocanto	Timbaúba	Pernambuco	-7,6096	-35,3952
Xenocanto	Parque Dois Irmãos, Recife,	Pernambuco	-8,0539	34,8809
Xenocanto	Onverwacht	Suriname	5,5834	-55,1667
Wikiaves	Santa Cruz Cabrália	Bahia	-16,278206	-39,038921
Wikiaves	Xapuri	Acre	-10,336902	-68,502271
Wikiaves	Atalaia do Norte	Amazonas	-4,363439	-70,177265
Wikiaves	Borba	Amazonas	-4,648658	-59,476142
Wikiaves	Careiro	Amazonas	-3,826508	-60,345012
Wikiaves	Careiro da Vársea	Amazonas	-3,150265	-59,858529
Wikiaves	Manacapuru	Amazonas	-3,172327	-60,716837
Wikiaves	Alto Alegre	Roraima	3,201903	-63,4018
Wikiaves	Cantá	Roraima	2,621327	-60,623875
Wikiaves	Candeias do Jamiri	Rondônia	-8,809894	-63,696534
Wikiaves	Vilhena	Rondônia	-11,399534	-60,246703
Wikiaves	Aripuanã	Mato Grosso	-10,197983	-59,621123
Wikiaves	Nova Xavantina	Mato Grosso	-14,703879	-52,353162
Wikiaves	Acará	Pará	-2,03951	-48,332612
Wikiaves	Colares	Pará	-0,926991	-48,28307
Wikiaves	Muaná	Pará	-1,332325	-49,280585
Wikiaves	Primavera	Pará	-0,958389	-47,094329

Wikiaves	Senador José Porfírio	Pará	-2,556089	-51,929984
Wikiaves	Tailândia	Pará	-2,890755	-48,901456
Wikiaves	Vigia	Pará	-0,930981	-48,105185
Wikiaves	Ferreira Gomes	Amapá	0,854087	-51,169429
Wikiaves	Araguantins	Tocantins	-5,6530228	-48,133132
Wikiaves	Caseara	Tocantins	-9,269402	-49,95015
Wikiaves	Porto Nacional	Tocantins	-10,704883	-48,391569
Wikiaves	Alcântara	Maranhão	-2,395223	-44,417188
Wikiaves	Barra do Corda	Maranhão	-5,495497	-45,231364
Wikiaves	Carutapera	Maranhão	-1,340164	-46,016327
Wikiaves	Caxias	Maranhão	-4,829753	-43,354145
Wikiaves	Godofredo Viana	Maranhão	-1,4031	-45,779482
Wikiaves	São Benedito do Rio Preto	Maranhão	-3,397347	-43,599155
Wikiaves	São Luís	Maranhão	-2,57557	-44,252417
Wikiaves	Urbano Santos	Maranhão	-3,212126	-43,38436
Wikiaves	Altos	Piauí	-5,058441	-42,473633
Wikiaves	Piracuruca	Piauí	-3,849173	-41,547007
Wikiaves	Guaraciaba do Norte	Ceará	-4,138842	-40,740109
Wikiaves	Ipu	Ceará	-4,3145	-40,72345
Wikiaves	São Benedito	Ceará	-4,033172	-40,840929
Wikiaves	Viçosa do Ceará	Ceará	-3,567003	-41,098938

Wikiaves	Baía Formosa	Rio Grande do Norte	-6,380483	-35,018848
Wikiaves	Parnamirim	Rio Grande do Norte	-5,884288	35,265423
Wikiaves	Conde	Paraíba	-7,253811	-34,91819
Wikiaves	João Pessoa	Paraíba	-7,096176	-34,882987
Wikiaves	Mamanguape	Paraíba	-6,874801	-35,128353
Wikiaves	Natuba	Paraíba	-7,634205	-35,549474
Wikiaves	Sapé	Paraíba	-7,048523	-35,238827
Wikiaves	Abreu e Lima	Pernambuco	-7,909556	-34,959672
Wikiaves	Cortês	Pernambuco	-8,395891	-35,513211
Wikiaves	Lagoa dos Gatos	Pernambuco	-8,655479	-35,88189
Wikiaves	Moreno	Pernambuco	-8,108276	-35,079108
Wikiaves	Paulista	Pernambuco	-7,936157	-34,868143
Wikiaves	Rio Formoso	Pernambuco	-8,66028	-35,17885
Wikiaves	Tamandaré	Pernambuco	-8,761445	-35,114659
Wikiaves	Maceió	Alagoas	-9,658202	-35,778627
Wikiaves	Pilar	Alagoas	-9,597746	-35,989339
Wikiaves	São Miguel dos Campos	Alagoas	-9,791684	-36,110733
Wikiaves	São Miguel dos Milagres	Alagoas	-9,25422	-35,392974
Wikiaves	Estância	Sergipe	-11,271572	-37,388113

Wikiaves	Itabaiana	Sergipe	-10,732922	-37,36522
Wikiaves	Itaporanga d'Ajuda	Sergipe	-10,993742	-37,305776
Wikiaves	Santo Amaro das Brotas	Sergipe	-10,796532	-37,069155
Wikiaves	Cachoeira	Bahia	-12,591888	-38,272041
Wikiaves	Cairu	Bahia	-13,528827	-38,957588
Wikiaves	Camacan	Bahia	-15,434507	-39,540525
Wikiaves	Entre Rios	Bahia	-11,963657	-38,092031
Wikiaves	Ibirataia	Bahia	-13,949793	-39,677511
Wikiaves	Igrapiúna	Bahia	-13,826021	-39,133706
Wikiaves	Ituberá	Bahia	-13,73631	-39,168022
Wikiaves	Jacobina	Bahia	-11,075952	-40,624987
Wikiaves	Jandaíra	Bahia	-11,558065	-37,816869
Wikiaves	Porto Seguro	Bahia	-16,490616	-39,280725
Wikiaves	Uruçucá	Bahia	-14,510799	-39,290668
Wikiaves	Conceição da Barra	Espírito Santo	-18,587027	-39,745459
Cornell	Demerara-Mahaica	Guyana	6,496994	-58,083986
Cornell	Coruripe, Usina Coruripe	Alagoas	-10,0058333	-36,2755556
Cornell	8.0 km ENE Careiro do Castanho, Fazenda Toshiba	Amazonas	-3,7947222	60,2966667
Cornell	35.0 km SE Texeira de Freitas, Floresta de Caravelas	Bahia	-17,7580556	-39,5127778
Cornell	Dadanawa, Upper Takutu-Upper Essequibo	Guyana	2,923763	-58,769187
Cornell	Cristalino Ecological Institute	Mato Grosso	-9,597616	-55,931219

Cornell	Villa Tunari, Cochabamba	Bolívia	-16,98	-65,4
Cornell	Belém	Pará	-1,437077	-48,362985
Cornell	Oeste de Manaus, a oeste do Rio Negro	Amazonas	-3,01773	-60,123626
Cornell	35,0 km Norte de Caranavi; Serrania Bellavista, La Paz	Bolívia	-15,65	-67,05
Cornell	Margem esquerda do Rio Acari	Amazonas	-5,2269535	-59,7357485
Cornell	Nordeste flanco Kusad Montanha	Guyana	2,8166667	59,8166667
Cornell	Rio Courantyne	Guyana	4,742874	-57,892072
Cornell	10.0 km Oeste para El Palmar	Venezuela	7,97	-61,88
Cornell	Peru	Peru	-9	-75
	5,0 km Nordeste de Iquitos, Explorama Lodge, Yanamono Creek,			
Cornell	Loreto	Peru	-3,3666667	-72,9
Cornell	San Pedro, Cuzco	Peru	-13,15	-71,3333333
Cornell	5.0 km Suldoeste de Taisha, Morana-Santiago	Ecuador	-2,3666667	77,5
Cornell	Alter do Chão	Pará	-2,53537	-54,957694
Cornell	Cachoeira Nazare, margem oeste do Rio Jiparana	Rondônia	-8,887569	-62,057267
Cornell	~ 10 km. Leste de Paso Caruachi, Rio Caroni	Venezuela	8,1	-62,8
Cornell	Rio Teles Pires	Mato Grosso	-11,220837	-55,416106

Anexo 2. Variáveis climáticas (WorldClim), utilizadas para construir os modelos de distribuição de nicho do presente e passado [Holoceno, LGM e LIG].

Variável	Descrição
BIO1	Annual Mean Temperature
BIO2	Mean Diurnal Range (Mean of monthly (max temp - min temp))
BIO3	Isothermality (BIO2/BIO7) (* 100)
BIO4	Temperature Seasonality (standard deviation *100)
BIO5	Max Temperature of Warmest Month
BIO6	Min Temperature of Coldest Month
BIO7	Temperature Annual Range (BIO5-BIO6)
BIO8	Mean Temperature of Wettest Quarter
BIO9	Mean Temperature of Driest Quarter
BIO10	Mean Temperature of Warmest Quarter
BIO11	Mean Temperature of Coldest Quarter
BIO12	Annual Precipitation
BIO13	Precipitation of Wettest Month
BIO14	Precipitation of Driest Month
BIO15	Precipitation Seasonality (Coefficient of Variation)
BIO16	Precipitation of Wettest Quarter
BIO17	Precipitation of Driest Quarter
BIO18	Precipitation of Warmest Quarter
BIO19	Precipitation of Coldest Quarter
ALT*	Altitude

* A variável altitude foi utilizada apenas no modelo de distribuição de nicho do presente.

Anexo 3. Gráficos representando os valores (médias) de AUC dos modelos de distribuição de nicho presente, holoceno, LGM e LIG.

